



УЧЕБНИК



С.И.ЛЮТИНСКИЙ, В.С.СТЕПИН

**ПРАКТИКУМ  
ПО ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ  
ФИЗИОЛОГИИ  
СЕЛЬСКО-  
ХОЗЯЙСТВЕННЫХ  
ЖИВОТНЫХ**



УЧЕБНИКИ И УЧЕБНЫЕ ПОСОБИЯ ДЛЯ СТУДЕНТОВ  
ВЫСШИХ УЧЕБНЫХ ЗАВЕДЕНИЙ



С. И. ЛЮТИНСКИЙ, В. С. СТЕПИН

# **ПРАКТИКУМ ПО ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИОЛОГИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ**

2-е издание, переработанное и дополненное

Рекомендовано Министерством сельского хозяйства Российской Федерации в качестве учебного пособия для студентов высших учебных заведений по специальности «Ветеринария»



МОСКВА «КОЛОС» 2001

УДК 616—092:619(076.5)  
ББК 48.7я73  
Л96

Редактор *В. Н. Сайтаниди*

Рецензент — зав. кафедрой патанатомии и патофизиологии Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина доктор ветеринарных наук, профессор *А. Г. Савойский*

Л96 **Лютинский С. И., Степин В. С.**  
Практикум по патологической физиологии сельскохозяйственных животных. — М.: Колос, 2001. — 224 с.: ил. — (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений).  
ISBN 5—10—003509—9.

Практикум состоит из трех разделов. В первом даны общие понятия о болезни. Во втором описаны эксперименты, включающие типичные патологические процессы. В третьем разделе представлены практические задания, необходимые для усвоения патологической физиологии органов и систем. Во второе издание (первое вышло в 1989 г.) включены новые темы, методики, эксперименты.

Для студентов вузов по специальности «Ветеринария».

УДК 616—092:619(076.5)  
ББК 48.7я73

ISBN 5—10—003509—9

© Агропромиздат, 1989  
© Издательство «Колос», 2001,  
с изменениями

---

## ПРЕДИСЛОВИЕ

●

Первое издание учебного пособия по патологической физиологии сельскохозяйственных животных вышло более десяти лет назад. Оно давно разошлось, и возникла необходимость переиздания. Во втором, переработанном издании часть опытов заменена описанием новых. Заново изложен материал по теме «Патологическая физиология иммунной системы», представляющий значительный интерес для современных понятий о причинах, генезе заболеваний животных, профилактике и лечении.

Второе издание, как и предыдущее, предусматривает обучение студентов навыкам ведения патофизиологических экспериментов, имеющим существенное значение в практической и научной деятельности будущего врача, привития им научного мышления, философского представления о сущности болезни, ее основных проявлений.

В практикуме предусмотрены задания для самоконтроля уровня полученных знаний при прохождении каждой темы. Он приобщает студентов к самостоятельной учебно-исследовательской работе путем подготовки подопытных животных к лабораторным занятиям и лекционным демонстрациям, их проведению.

Для внеаудиторной работы предусмотрено решение ситуационных задач, рекомендованы темы научных рефератов и монографические литературные источники последних лет.

В учебном пособии описаны эксперименты, выполняемые как на лабораторных животных, так и частично на сельскохозяйственных. Это диктуется зарождающейся клинической патофизи-

зиологией в ветеринарной медицине, ведением экспериментальных исследований в производственных условиях, выполняемых во все расширяющихся масштабах.

Практикум составлен в соответствии с учебной программой по патологической физиологии для высших сельскохозяйственных учебных заведений, утвержденной в октябре 1998 г.

Заслуженный деятель науки Российской Федерации, лауреат премии Совета Министров СССР, доктор ветеринарных наук, профессор

*С. И. Лютинский*

Доктор ветеринарных наук, профессор

*В. С. Степин*

## ВВЕДЕНИЕ



Патологическая физиология — фундаментальная теоретическая дисциплина, занимающая центральное место в системе высшего ветеринарного образования в нашей стране. Она в эксперименте изучает механизмы, обеспечивающие здоровье и устойчивость животных к патогенным факторам, приспособляемость организмов к условиям существования.

Создание здоровых стад и обеспечение населения доброкачественными продуктами питания — важнейшие задачи, поставленные перед ветеринарными работниками. Высококвалифицированные ветеринарные врачи должны иметь четкое представление о причинах и условиях возникновения болезней животных, закономерностях их развития, течения и исхода. Эти закономерности можно познать при клиническом наблюдении за животными и, что особенно важно, в результате моделирования патологических процессов. Экспериментальная патология способствует формированию врачебного мышления, вооружает молодого исследователя разнообразными методическими приемами, способами добывания истины, побуждает к познанию нового, неизведанного. Экспериментальный метод позволяет анализировать патологические процессы, выявлять функциональные изменения в организме с момента воздействия вредоносного фактора до исхода болезни. Эксперимент дает возможность установить причины болезни, воссоздать условия, ограничивающие или потенцирующие их действие на животный организм.

В предлагаемом практикуме изложены опыты, методики их реализации, обработки полученных данных и порядок протоколирования. Практикум составлен в соответствии с действующей учебной программой по патологической физиологии сельскохозяйственных животных. Однако выполнение лабораторных работ по патологической физиологии в различных вузах страны не может быть стереотипным. Каждая кафедра имеет свои традиции, направленность в научных исследованиях, собственную материальную базу. Поэтому в практикуме отсутствует какая-либо регламентация в проведении каждого занятия. Для изучения конкретных тем предлагается ряд учебных заданий и опытов. В практикум внесены задания, которые могут быть использованы студентами

для индивидуальных занятий под руководством преподавателя и имеют поисковый характер.

Все учебные задания рассчитаны на выполнение студентами учебно-исследовательской работы. Этой цели служат вопросы, предлагаемые для самоподготовки и самоконтроля, методические приемы и методики изучения патологии в модельных опытах, получение, протоколирование и анализ экспериментальных данных, решение ситуационных задач, написание рефератов, а также литература для самостоятельного изучения.

В основу практикума положены разработки и методические приемы, используемые в учебном процессе кафедрами патологической физиологии Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины и Семипалатинского аграрного университета. При написании книги был учтен положительный опыт преподавания дисциплины Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина, Казанской государственной академии ветеринарной медицины, Башкирского государственного аграрного университета, Киевской сельскохозяйственной академии, Литовской академии ветеринарной медицины, Саратовского государственного аграрного университета, Оренбургского государственного университета и других вузов страны.

Практикум предназначен для студентов ветеринарных вузов и факультетов, а также для начинающих преподавателей.

---

# Раздел I

## ОБЩЕЕ УЧЕНИЕ О БОЛЕЗНИ

### Тема 1

#### ПРЕДМЕТ И ЗАДАЧИ ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИОЛОГИИ

**Цель занятий.** Дать общее представление о патологической физиологии, ее значении в подготовке ветеринарного врача. Научить основным принципам подготовки подопытных животных к эксперименту, элементам ведения опыта и обработке полученных данных.

**Задание 1.** Отработать методику введения различных препаратов подопытным животным.

**Материальное оснащение\*:** шприцы на 5 мл с иглами (15); клетки для кроликов (4); станки для собак (2); клетки для крыс (4); клетки для мышей (4); изогнутые ножницами (4); зонды пищеводные для кролика (2); сосуды Дьюара на 200 мл (2); 0,65%-ный раствор натрия хлорида (300 мл); 0,9%-ный раствор натрия хлорида (500 мл); 70%-ный раствор этилового спирта (100 мл); подопытные животные: лягушки (6), крысы (6), мыши (6), кролики (4), куры (4), собаки (2), свиньи (2).

**Постановка опыта.** Лягушке подкожно инъецируют жидкость в спинной лимфатический мешок. Для этого лягушку до головы обматывают марлевой салфеткой, берут ее в левую руку, в правой держат шприц и вкалывают иглу под кожу головы лягушки в каудальном направлении, вводят 0,5 мл изотонического раствора натрия хлорида.

Кролику для моделирования патологических процессов инъецируют различные растворы в краевую вену уха. Выстригают шерсть с наружной поверхности уха над кровеносным сосудом. Ваткой, смоченной 70%-ным раствором этилового спирта, протирают кожу. Находят вену и прижимают ее двумя пальцами ниже места инъекции. Вена набухает, увеличивается в размере, становится рельефной, хорошо заметной. Шприц с 1 мл физиологического раствора держат в правой руке (рис. 1), предварительно удалив все пузырьки воздуха. Короткую тонкую иглу держат срезом вверх, наклоняют к поверхности кожи и отрывистым движением прокалывают ее рядом с веной. Ставят иглу более полого и, пользуясь подвижностью кожи, направляют ее острие в сосуд, осторожно прокалывая его переднюю стенку (не прокалывая зад-

---

\*Материальное оснащение предусмотрено для академической группы в 25—30 человек, разделяемой во время занятий на две подгруппы.



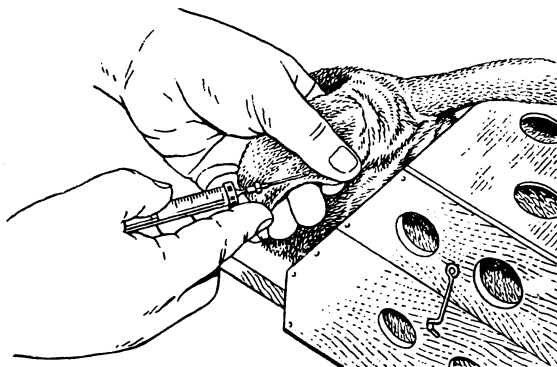


Рис. 1. Инъекция в краевую вену уха кролика

ней). Если игла попала в крупную вену, то при слабом оттягивании поршня в содержимое шприца вливается струйка крови. Прекращают сжимать вену и, медленно продвигая поршень шприца, вводят раствор в сосуд.

Подкожно препараты инъецируют кроликам в область лопатки, внутримышечно — в мышцы бедра.

Для принудительного введения жидкости в желудок и кишечник поступают следующим образом (рис. 2). Из мягкой резины вырезают зевник такого размера, чтобы он мог поместиться между коренными зубами. В центре его делают отверстие, к концам при-

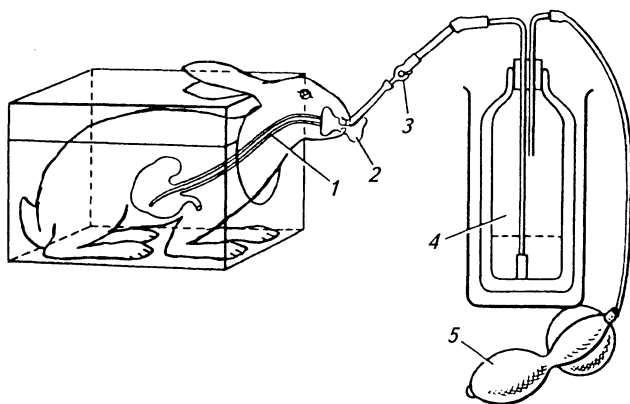


Рис. 2. Схема введения жидкости кролику через пищеводный зонд:

1 — резиновый пищеводный зонд; 2 — резиновый зевник; 3 — переходный кран; 4 — сосуд Дьюара; 5 — резиновые шары для нагнетания воздуха

крепляют тесемки, зевник 2 вставляют в рот, тесемки завязывают за ушами. В отверстие зевника вводят резиновый зонд 1, слегка смазанный вазелином. Для заливки животному определенного количества жидкости заданной температуры используют сосуд Дьюара 4 и резиновые шары от пульверизатора. В горло сосуда вставляют пробку, через которую проходят две стеклянные трубки. Одна соединена с зондом через переходный кран 3, а другая — с резиновыми шарами 5. В сосуд наливают воду (50 мл), подогретую до температуры 40 °С, повышают давление, открывают переходный кран, и жидкость быстро перемещается из резервуара в желудок и кишечник кролика.

В толстый кишечник препараты вводят ректально. Наконечник спринцовки, смазанный вазелином, вставляют в прямую кишку и вливают 20—30 мл теплой жидкости.

Собаке внутривенные инъекции делают через подкожную малую вену бедра, на ограниченном отрезке, пересекающем сзади и сверху, вперед и вниз латеральную поверхность скакательного сустава. В месте расположения сосуда с кожи состригают волосы, ее поверхность смазывают 5%-ным спиртовым раствором йода, на бедро накладывают резиновый жгут. Если собака небольшая, то центральный конец вены один из студентов прижимает пальцами (рис. 3). Иглу вкалывают в расширенную, набухшую вену по направлению к сердцу, и после снятия жгута, убедившись, что игла находится в просвете сосуда, в него медленно вводят содержимое шприца.

Белым крысам и мышам инъекции различных препаратов в кровь осуществляют через хвостовую вену. Животное помещают в плексигласовую клеточку; для расширения сосудов хвост опускают на 2—3 мин в теплую (40 °С) воду, высушивают его марлевой салфеткой и обтирают 70%-ным раствором этилового спирта. Придерживая кончик хвоста левой рукой, в правую берут шприц, наполненный физраствором (рис. 4). Тонкой иглой сначала прокалывают кожу на латеральной поверхности хвоста, а затем стенку сосуда. При попадании иглы в просвет вены в шприце появляется кровь, и при движении поршня заметен свободный ток жидкости.

Крысам, мышам и морским свинкам делают также подкожные и внутрибрюшинные инъекции, для чего предварительно удаляют волосы с места укола и протирают его 70%-ным раствором этилового спирта.

Местом для внутривенного введения препаратов у птиц (кур) служит под-

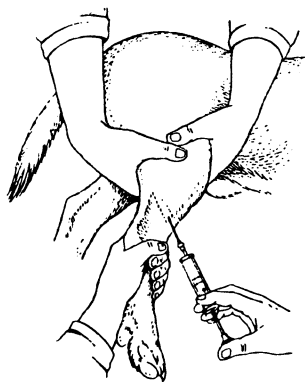


Рис. 3. Инъекция в подкожную малую вену бедра собаки

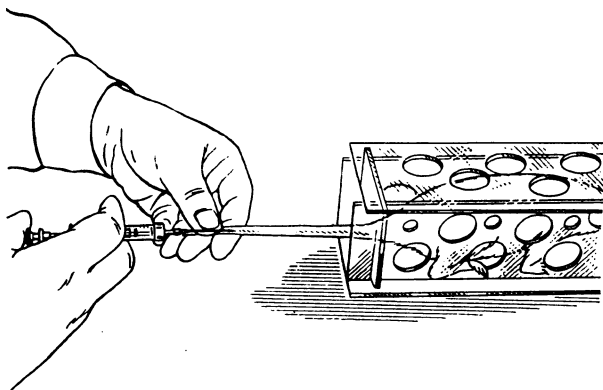


Рис. 4. Инъекция в хвостовую вену крысы

крыльцовая вена. Удерживая птицу в руках, на внутренней поверхности крыла находят сосуд и в этом месте выщипывают несколько перьев. Кожу протирают дезинфицирующим раствором. Лево́й рукой в области локтевого сустава прижимают центральный конец сосуда, а в периферический, проколов кожу, вводят инъекционную иглу по направлению к сердцу. Убедившись в том, что игла в сосуде, прекращают его сдавливание и, нажимая на поршень, вводят содержимое шприца в вену. Для предупреждения развития гематомы кровеносный сосуд в месте укола прижимают пальцами в течение 2—3 мин.

Лошадям, крупному и мелкому рогатому скоту используемые препараты вводят в основном в яремную вену. В верхней части средней трети шеи по ходу яремного желоба выстригают шерсть, кожу смазывают 5%-ным спиртовым раствором йода. Ниже места инъекции сдавливают вену большим пальцем левой руки (а) или жгутом (б) (рис. 5).

Ввиду значительных объемов инъекцируемой жидкости используют специальный аппарат для внутривенных вливаний, соединенный с муфтой инфузионной иглы посредством канюли и резиновой трубки. После наполнения вены, что можно определить визуально, инфузионную иглу, направленную краниально, под углом 40—45° вводят под кожу, а затем в сосуд, стараясь не проколоть его противоположную стенку. Иглу немного продвигают вперед по ходу вены, и если идет струя крови, соединяют муфту с канюлей инфузионного аппарата. Вначале он опущен ниже уровня шеи, но как только в нем появится кровь, сосуд сразу же поднимают вверх и ждут, пока находящаяся там жидкость не поступит в вену. Нужно следить за тем, чтобы не произошло эмболии, т. е. в кровеносный сосуд ни в коем случае не должен попасть воздух. После окончания вливания инфузионный аппарат опускают, обратный ток крови

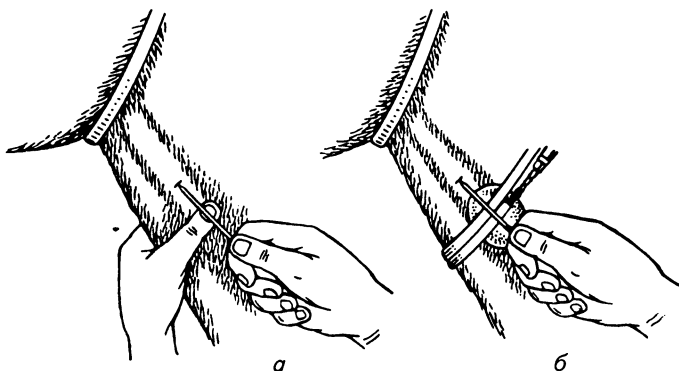


Рис. 5. Инъекция в яремную вену лошади:

*а* — пережатие сосуда пальцем; *б* — пережатие сосуда жгутом

промывает иглу и ее извлекают из вены. Место прокола кожи вновь обрабатывают спиртовым раствором йода.

Крупным животным препараты вводят подкожно в те места, где хорошо развита подкожная клетчатка, но мало нервов и крупных кровеносных сосудов: боковая поверхность груди, за лопатками, задняя часть шеи (выше яремного желоба), наружная поверхность бедра. В месте, выбранном для инъекции, выстригают шерсть, кожу смазывают 5%-ным спиртовым раствором йода. В простерилизованный шприц набирают нужную жидкость. Оттягивают левой рукой кожную складку и продольно к ее основанию под углом  $45^\circ$  вкалывают иглу, инъецируют содержимое шприца. Место укола вновь смазывают раствором йода.

Свиньям растворы препаратов вводят в кровь через большую ушную вену. Перед инъекцией кожу уха протирают влажной марлевой салфеткой или ватой, затем 70%-ным раствором этилового спирта. Основание уха сдавливают резиновым жгутиком или прижимают вену пальцами. Иглу вкалывают по направлению к голове (рис. 6).

Подкожные инъекции делают в области основания ушной раковины, внутримышечные — в области наружной поверхности бедра.

**Задание 2.** Освоить наркотизирование и фиксацию подопытных животных.

Материальное оснащение: шприцы на 5 мл с иглами (12); препаровальные иглы (8); операционные столики для мелких лаборатор-



Рис. 6. Инъекция в ушную вену свиньи

ных животных (2); операционные столики для кроликов и кошек (2); операционные столы для собак (2); фиксационные клетки для кур (2); павловские станки для собак (2); пробковые дощечки (6); булавки (30); 20%-ный раствор уретана (30 мл); 70%-ный раствор этилового спирта (100 мл); подопытные животные: лягушки (10), крысы (10), кролики (2), кошки (2), куры (2), собаки (2), свиньи (2).

**П о с т а н о в к а   о п ы т а .** Подавляющее число оперативных вмешательств, связанных с подготовкой, а частично и с проведением патофизиологических экспериментов, осуществляют на наркотизированных животных. Используемые в этих целях наркотики для лабораторных животных, концентрация, дозы и способы их применения приведены в таблице 1. Кроме инъекцируемых наркотических средств нередко применяют ингаляционные (вдыхаемые) наркотики; в этих случаях наиболее часто употребляют эфир.

Кошек, крыс, мышей помещают в закрытые емкости: ящик (кошек), стеклянный колпак или большую воронку (рис. 7) (морских свинок, крыс, мышей), куда кладут вату, смоченную эфиром для наркоза. Для собак и кроликов готовят ингаляционные маски. О глубине наркоза судят по поведению животных.

Для наркоза лягушек чаще используют 10%-ный раствор этилового спирта. Этих животных можно затем обездвижить, разрушая головной (спинальная лягушка) или спинной мозг. Лягушку плотно заворачивают в марлевую салфетку, двумя пальцами левой руки (мизинцем и безымянным) слегка прижимают вытянутые задние лапки, но сильно не сдавливают. Затем средним и большим пальцами подпирают голову лягушки с боков, а указательным слегка наклоняют ее вниз (рис. 8, а). При правильном положении пальцев хорошо обозначается субокципитальное отверстие между затылочной костью и первым позвонком. Не опуская паль-

цев левой руки, через это отверстие в череп вводят препаровальную иглу и, поворачивая ее в разные стороны, разрушают головной мозг (рис. 8, б). Для разрушения спинного мозга иглу поворачивают на 180° и вводят в позвоночный канал. К опытам приступают спустя 10—15 мин.

Лягушек наркотизируют одним из следующих способов:

1) погружением на 5—8 мин в 10%-ный раствор этилового спирта;

2) ингаляцией паров эфира под стеклянной воронкой;

3) инъекцией в спинной лимфатический мешок одного из растворов: 5%-ного раствора хло-

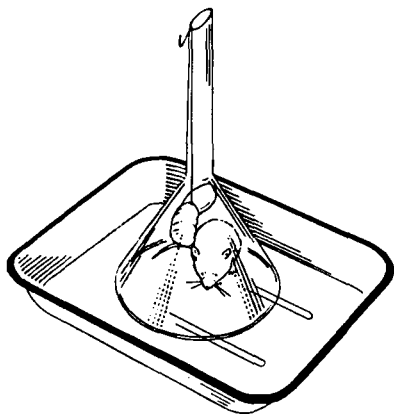


Рис. 7. Наркотизирование мыши эфиром

# 1. Препараты, применяемые для инъекционного наркоза лабораторным животным

Препараты	Способы введения	Лабораторные животные					Концентрация, %
		собака	кошка	кролик	крыса	мышь	
Барбамил, мг/кг	Внутривенно	40—60	100—120	40—55	—	—	5—10
	Подкожно	80—120	—	70—80	60—80	100—150	5—10
Барбитал-натрий, мг/кг	Внутрибрюшинно	60—80	—	—	—	—	5—10
	Внутривенно	225	350	300	250	250	10
Гексенал, мг/кг	Внутрибрюшинно	—	—	300	250	500	10
	Внутривенно	40—50	30—50	30—40	50—60	50	5—10
	Подкожно	—	—	—	50—80	100	1
	Внутримышечно	—	40—50	—	—	—	5—10
Тиопентал-натрий, мг/кг	Внутривенно	25—35	30—40	30	50—60	50—60	2
	Подкожно	25—40	—	—	70—80	80	2
	Внутрибрюшинно	—	—	—	50—60	50—60	2
Уретан, г/кг	Внутривенно	1—1,2	1,0	—	1,0	1,2	30
	Подкожно	—	—	1,0	1,0	1,5	30
	Внутримышечно	0,5—1,0	1,0—1,2	1,0	—	—	30
	Внутрибрюшинно	—	—	1,0	1,0	1,0	20
Хлоралгидрат, мг/кг	Внутривенно	100—150	75—120	300—400	300	300	10—20
	Подкожно	—	300—400	300—400	450	450	7—10
	Внутрибрюшинно	250—300	180—220	250—500	300	300	2—3
Хлоралоза, мг/кг	Внутривенно	60	80	—	50—70	50—70	10—20
	Подкожно	—	—	—	85	85	5
	Внутрибрюшинно	—	—	—	55	50—70	5
Этаминал-натрий, мг/кг	Подкожно	35	35	35	40	40	5
	Внутрибрюшинно	—	45	40	50	50	5
Этанол, мг/кг	Подкожно	—	—	—	—	4	25—30
	Внутрибрюшинно	—	—	—	6	—	25—30
Раствор рометара, мл/кг	Внутримышечно	0,1—0,2	0,1—0,2	—	—	—	2

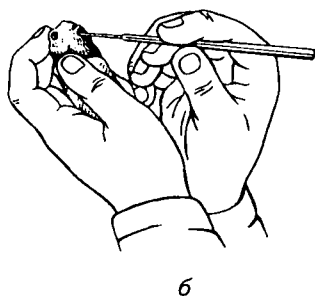
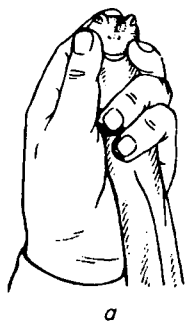


Рис. 8. Фиксация лягушки (а) и разрушение головного мозга (б)

ралгидрата (1,5—2 мл), 1%-ного раствора гексенала (0,5 мл), 10%-ного раствора уретана (1—1,5 мл), 25%-ного раствора этанола (2 мл).

Морских свинок наркотизируют 30%-ным раствором уретана из расчета 1 г/кг внутривенно, 5%-ным раствором этиминал-натрия — 30 мг/кг внутривенно, 7%-ным раствором хлоралгидрата — 300 мг/кг подкожно.

Во время патофизиологических экспериментов нередко нужно ограничить двигательную способность животных. Фиксируют животных, находящихся под наркозом, а также бодрствующих.

Лягушек для визуального наблюдения помещают под стеклянную воронку или колпак. Наркотизированную или спинальную

лягушку укрепляют на пробковой (пенопластовой) дощечке, прикалывая конечности булавками (рис. 9).

Морских свинок, мышей и крыс наблюдают в террариумах, под стеклянными колпаками или воронками. Для более жесткой иммобилизации используют клеточки из плексигласа с дырчатыми стенками. Наркотизированных мелких лабораторных животных фиксируют на специальном операционном столике (рис. 10). Выдвижное 1 и шарнирное 2 устройства позволяют менять высоту и угол наклона доски стола. Четыре движущихся в пазах зажима 3 служат для привязывания конечностей с помощью марлевых тесемок. Набор держателей 4 обеспечивает фиксацию головы подопытного животного.

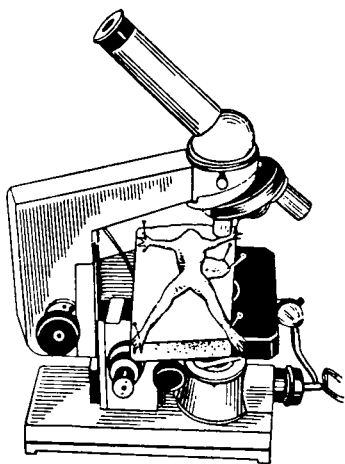


Рис. 9. Размещение наркотизированной лягушки под объективом микроскопа

Более крупных лабораторных животных (кроликов и кошек) в состоянии наркоза фиксируют спиной вниз или вверх на специальных операционных столиках размером  $75 \times 17$  см (рис. 11). Конечности привязывают марлевыми бинтами; для фиксации головы используют головодержатель.

Кроликов и кошек, находящихся без наркоза, удобно помещать в решетчатые деревянные клетки (рис. 12). Длина клетки 30 см, высота 18 см, ширина 15 см. В центре передней стенки проделано овальное отверстие, позволяющее вывести голову кролика (кошки) за пределы клетки. Дно имеет несколько продольных вырезов для удаления мочи и фекальных масс, выделяющихся во время опыта, поэтому клетку располагают на эмалированной кювете соответствующего размера. Верхняя треть клетки представляет собой откидывающуюся крышку. Кролика (кошку) сажают в клетку, голову животного выводят наружу через отверстие в передней стенке, клетку закрывают.

Собакам надевают намордник или накладывают повязку, удерживающую челюсти в сомкнутом состоянии. Середину повязки размещают на гребне носа, а концы крепко завязывают под нижней челюстью. На затылке связывают оставшиеся части тесьмы (бинта) (рис. 13).

Интактных, ненаркотизированных собак на время опыта помещают в павловский станок, надев лямки на передние и задние лапы.

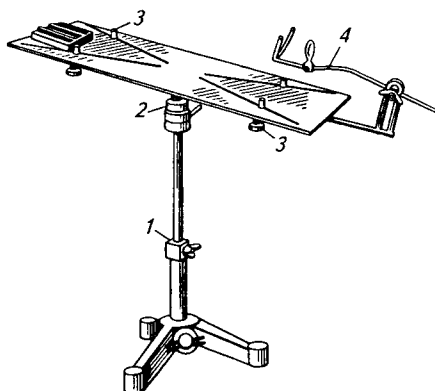


Рис. 10. Операционный столик для мелких лабораторных животных:

1 — выдвижное устройство; 2 — шарнир; 3 — зажимы в пазах; 4 — держатель для головы

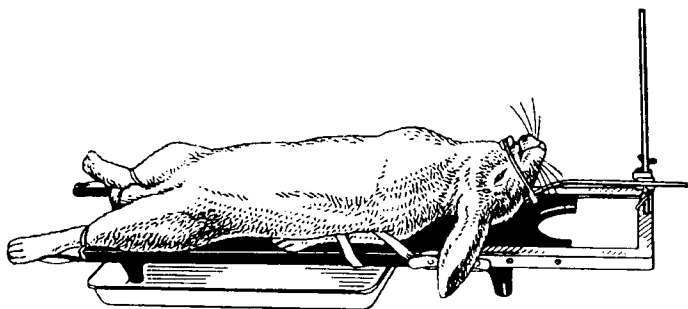


Рис. 11. Фиксация кролика на операционном столике



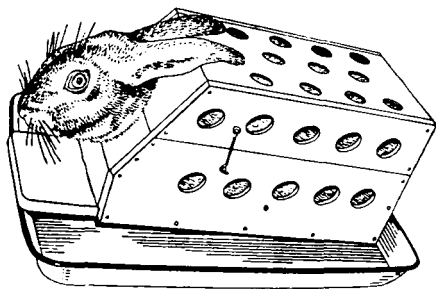


Рис. 12. Клетка для фиксации кролика

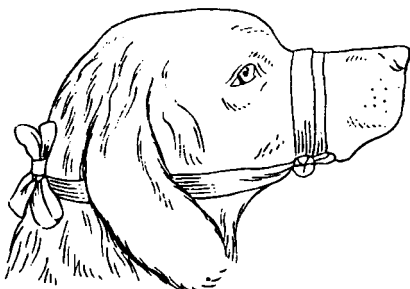


Рис. 13. Фиксация челюстей собаки

Собак, находящихся в состоянии наркоза, фиксируют на металлическом или деревянном, покрытом белой масляной краской пологом операционном столе с вогнутой крышкой и четырьмя прикрепленными по краям скобами для привязывания лямок. Такой стол можно сделать в любой столярной мастерской. Собаку привязывают к поверхности стола лямками (тесма, бинт), которыми крепят передние и задние конечности. Голову фиксируют специальным держателем.

Овцу и свинью на период опыта можно поместить в павловский станок, но лучше в деревянную или сваренную из металлических полос клетку, соответствующую размерам животного с входной и выходной дверцами.

Наркотизированных овец и свиней для проведения операций или вивисекционных опытов фиксируют таким же образом, как и собак на вышеописанном операционном столе.

Лошадям на время проведения болезненных манипуляций (инъекции, взятие крови и пр.) на верхнюю губу накладывают закрутку. Корове и быку сдавливают носовую перегородку большим и указательным пальцами. Для этого студент, стоящий сбоку от головы животного, захватывает рукой ближайший рог и поворачивает голову животного, а другой рукой сдавливает носовую перегородку. При более продолжительных и болезненных процедурах носовую перегородку сдавливают специальными носовыми щипцами.

При необходимости ограничений крупных животных в движениях, например при исследовании дыхания или сердечной деятельности, пользуются станками, в условиях хозяйств — стойлами.

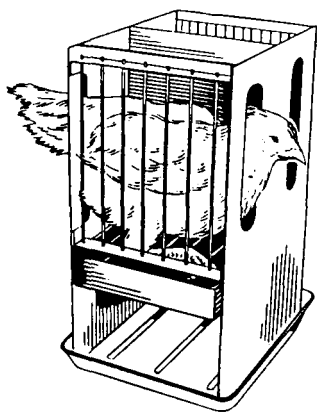


Рис. 14. Клетка для фиксации кур

Кур для иммобилизации помещают в металлическую решетчатую клетку (рис. 14). Голова, шея и хвост птицы выведены наружу через овальные отверстия в задней и передней стенках. Фекальные массы поступают в кювету.

**Задание 3.** Провести хирургическую операцию — адrenaлэктомию у крыс.

**Материальное оснащение:** наборы хирургических инструментов (2); столики для фиксации крыс (20); стеклянные воронки большие (2); кюветы (2); эфир для наркоза (20 мл); 5%-ный спиртовой раствор йода (10 мл); 0,5%-ный раствор аммиака (2000 мл); подопытные животные: крысы массой более 200 г (2).

**Постановка опыта.** Под руководством преподавателя студенты участвуют в проведении адrenaлэктомии у крыс. Животное помещают под стеклянную воронку, где лежит вата, смоченная эфиром. Наркотизированную крысу фиксируют на операционном столике вниз животом. Операцию проводят при соблюдении требований асептики и антисептики: хирург моет руки теплым 0,5%-ным раствором аммиака, затем протирает их йодированным спиртом. Его помощники готовят поле операции на спине животного ниже последних ребер вдоль позвоночника, где выстригают и выбривают волосы, а кожу смазывают спиртовым раствором йода. Хирург (студент) делает разрез по средней линии спины длиной 2—2,5 см, затем смещает кожу влево и рассекает латеральные позвоночные мышцы, начиная от угла, образованного последним ребром и длинной мышцей спины. Длина разреза 1—1,5 см. Под мышцами находится околопочечная жировая ткань. Отпрепаровывая ее тупым путем, обнаруживают почку и краниальнее от нее — надпочечник. Последний захватывают изогнутым тонким (зубным) пинцетом, приподнимают и у основания перевязывают тонкой разволокненной нитью вместе с соединительной тканью, в которой проходят сосуды и нервы. Глазными ножницами надпочечник отсекают выше места наложения лигатуры. На мышцы накладывают 2—3 шва. Смещают разрез вправо и удаляют второй надпочечник. Кожную рану закрывают непрерывным швом. Места вкола и выкола хирургической иглы смазывают раствором йода. После этого животное снимают с операционного столика.

**Задание 4.** Ознакомиться с биофизическими методами ведения эксперимента — влияние звукового раздражителя на сердечную деятельность.

**Материальное оснащение:** клетки для фиксации кур (2); электрокардиографы одноканальные (2); электрические звонки (200 дБ) (2); подопытные животные: куры (2).

**Постановка опыта.** За 3—5 ч до начала занятия взрослую курицу, адаптированную к условиям опыта, помещают в

фиксационную клетку, предварительно разместив и закрепив под кожей игольчатые отводящие электроды на крыльях и ногах для снятия электрокардиограмм в горизонтальной плоскости. Во время занятия студентам объясняют правила работы с электрокардиографом. Включают прибор, устанавливают контрольный милливольт, равный 15 мм. Регистрируют электрокардиограмму с таким расчетом, чтобы каждый студент получил ее отрезок с 8—10 сердечными циклами во втором стандартном отведении (рис. 15). Трижды, с перерывами в 1 мин, включают на 2—3 мин мощный электрический звонок, расположенный рядом с курицей, создающий сильный (200 дБ) звуковой эффект. В перерывах между включениями звонка и после окончания звукового воздействия на слуховой рецепторный аппарат птицы регистрируют ЭКГ. Анализируют динамику изменений частоты, ритмичности, величины зубцов, вызванных звуковым раздражителем. Разрезают ленту и раздают учащимся. Под руководством преподавателя студенты расшифровывают электрокардиограмму. Описывают форму, направление, вольтаж (мВ) зубцов, длительность (с) сердечного цикла (P—P) и интервалов P—Q, Q—T и T—P до и после воздействия звукового раздражителя. Данные заносят в протокол опыта и делают выводы.

**Задание 5.** Определить статистическую достоверность данных, полученных в патофизиологических экспериментах.

**Материальное оснащение:** микрокалькуляторы (15); *t*-таблицы критерия Стьюдента (15); таблицы со значением коэффициента  $K_n$  для определения ошибки ( $\pm m$ ) по размаху варьирования (15).

**Обработка данных.** Студенты получают набор цифровых показателей, вычисленных ранее в каком-либо эксперименте. Повторяют правила пользования микрокалькулятором. На классной доске преподаватель выписывает формулы, дает задания студентам определить достоверность средней арифметической и ве-



Рис. 15. Электрокардиограмма курицы:

*а* — в исходном состоянии; *б* — после аудигенного раздражения

роятность различий в показателях, полученных в исходном состоянии и после какого-либо воздействия на организм подопытного животного.

Среднюю арифметическую ошибку ( $m$ ) вычисляют по формуле

$$m = \pm \sqrt{\frac{\Sigma x^2}{n(n-1)}},$$

где  $\Sigma x^2$  — сумма квадратов отклонений каждой измеренной величины от средней арифметической ( $M$ );  $n$  — число измерений.

Вероятность ( $p$ ) возможной ошибки в оценке результатов исследований определяют по  $t$ -таблице критерия Стьюдента с учетом значений  $t$  ( $t = M/m$ ) и  $n(n-1)$ .

Вероятность различий ( $p$ ) в показаниях, полученных до и после воздействия вредоносного фактора, или у контрольных и подопытных животных определяют также по  $t$ -таблице. Для этого показатель существенности ( $t$ ) вычисляют по формуле

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}},$$

а степень свободы — по формуле  $n' = n_1 + n_2 - 2$ .

Примеры вычислений показаны в таблицах 2, 3 и 4.

## 2. Определение средней арифметической ( $M$ ), ее ошибки ( $\pm m$ ) и вероятности ( $p$ )

Номер курицы	Количество сердечных сокращений в 1 мин	$x$	$x^2$
1	169	11	121
2	178	2	4
3	170	10	100
4	191	11	121
5	187	7	49
6	165	15	225
7	184	4	16
8	196	16	256
$M$	180	$x^2$	892
$m$	$\pm 4$		

$$m = \sqrt{\frac{\Sigma x^2}{m(n-1)}} = \pm \sqrt{\frac{892}{8(8-1)}} = \pm \sqrt{15,9} = \pm 4;$$

$$t = \frac{M}{m} = \frac{180}{4} = 45;$$

$$n' = n - 1 = 8 - 1 = 7.$$

Исходя из значений критерия Стьюдента, устанавливаем, что  $p < 0,001$ .

### 3. Определение достоверности различий (первый метод)

Номер курицы	Число сердечных сокращений в 1 мин	
	в исходном состоянии	после аудигенного раздражения
1	169	196
2	178	204
3	170	188
4	191	137
5	187	221
6	165	109
7	184	240
8	196	225
<i>M</i>	180	215
<i>m</i>	+4,0	+6,7

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}};$$

$$t = \frac{215 - 180}{\sqrt{4^2 + 6,7^2}} = \frac{35}{7,8} = 4,49;$$

$$n' = n_1 + n_2 - 2 = 8 + 8 - 2 = 14.$$

Исходя из значений критерия Стьюдента, устанавливаем, что  $p < 0,001$ .

### 4. Определение достоверности различий (второй метод)

Номер курицы	Частота сердечных сокращений		Разность	x	x <sup>2</sup>
	в исходном состоянии	после аудигенного раздражения			
1	169	196	0	0	0
2	178	204	26	4	16
3	170	188	18	12	144
4	191	237	46	16	156
5	187	221	34	4	16
6	165	109	44	14	196
7	186	240	56	26	676
8	196	225	29	1	1
			30	x <sup>2</sup>	1305
			±4,8		

$$m = \sqrt{\frac{\sum x^2}{m(n-1)}} = \pm \sqrt{\frac{1305}{56}} = \pm 4,8;$$

$$t = \frac{M}{m} = \frac{30}{4,8} = 6,25;$$

$$n' = 8 - 1 = 7.$$

Для ускоренной обработки цифрового материала, полученного в эксперименте, можно использовать упрощенный метод определения ошибки средней арифметической. Этот модифицированный метод состоит в вычитании меньшей цифры из большей в ряду полученных данных. Разность делят на коэффициент  $K_n$ , соответствующий числу наблюдений. После вычисления ошибки ( $\pm m$ ) применяют критерий Стьюдента  $t = M/m$  для определения степени достоверности средней арифметической величины и достоверности различий (табл. 5).

5. Стандартные значения Стьюдента ( $t$ -таблица)

$n'$	$p$							
	0,5	0,25	0,1	0,05	0,02	0,01	0,002	0,001
1	1,00	2,41	6,31	12,70	31,82	63,70	318,30	637,00
2	0,816	1,60	2,92	4,30	6,97	9,92	22,33	31,60
3	0,765	1,42	2,35	3,18	4,54	5,84	10,22	12,90
4	0,741	1,34	2,13	2,78	3,75	4,60	7,17	8,61
5	0,727	1,30	2,01	2,57	3,37	4,03	5,89	6,86
6	0,718	1,27	1,94	2,45	3,14	3,71	5,21	5,96
7	0,711	1,25	1,89	2,36	3,00	3,50	4,79	5,40
8	0,706	1,24	1,86	2,31	2,90	3,36	4,50	5,04
9	0,703	1,23	1,83	2,26	2,82	3,25	4,30	4,78
10	0,70	1,22	1,81	2,23	2,76	3,17	4,14	4,59
11	0,697	1,21	1,80	2,20	2,72	3,11	4,03	4,44
12	0,695	1,21	1,78	2,18	2,68	3,05	3,93	4,32
13	0,694	1,20	1,77	2,16	2,65	3,01	3,85	4,22
14	0,692	1,20	1,76	2,14	2,62	2,98	3,79	4,14
15	0,691	1,20	1,75	2,13	2,60	2,95	3,73	4,07
16	0,690	1,19	1,75	2,12	2,58	2,92	3,69	4,01
17	0,689	1,19	1,74	2,11	2,57	2,90	3,65	3,96
18	0,688	1,19	1,73	2,10	2,55	2,88	3,61	3,92
19	0,688	1,19	1,73	2,09	2,54	2,86	3,58	3,88
20	0,687	1,18	1,73	2,09	2,53	2,85	3,55	3,85
21	0,686	1,18	1,72	2,08	2,52	2,83	3,53	3,82
22	0,686	1,18	1,72	2,07	2,51	2,82	3,51	3,79
23	0,685	1,18	1,71	2,07	2,50	2,81	3,49	3,77
24	0,685	1,18	1,71	2,06	2,49	2,80	3,47	3,74
25	0,684	1,18	1,71	2,06	2,49	2,79	3,45	3,72
26	0,684	1,18	1,71	2,06	2,48	2,78	3,44	3,71
27	0,684	1,18	1,71	2,05	2,47	2,77	3,42	3,69
28	0,683	1,17	1,70	2,05	2,47	2,76	3,41	3,67
29	0,683	1,17	1,70	2,05	2,46	2,76	3,40	3,66
30	0,683	1,17	1,70	2,04	2,46	2,75	3,39	3,65
$\infty$	0,674	1,15	1,64	1,96	2,33	2,58	3,09	3,29

Значения коэффициента  $K_n$  даны в таблице 6.

6. Значения коэффициента  $K_n$  для определения  $(\pm m)$  по размаху варьирования

$n$	$K_n$	$n$	$K_n$
2	1,128	17	14,352
3	2,394	18	15,008
4	3,566	19	15,651
5	4,652	20	16,280
6	5,666	21	16,896
7	6,623	22	17,496
8	7,532	23	18,082
9	8,400	24	18,651
10	9,234	25	19,204
11	10,034	26	19,740
12	10,806	27	20,258
13	11,556	28	20,743
14	12,284	29	21,208
15	12,991	30	21,670
16	13,679		

Так, в нашем примере максимальное число сердечных сокращений у интактных кур составляло 196 в 1 мин, а минимальное — 165, разность между ними 31. Число наблюдений 8. Отсюда получаем значение  $K_n = 7,532$ . Следовательно,  $m = \pm 31 : 7,532 = \pm 4,1$ . Далее, исходя из того что  $t = M/m = 180/4,1 = 43,9$ , а  $n' = n - 1 = 7$ , по  $t$ -таблице критерия Стьюдента определяем достоверность средней арифметической:  $p < 0,001$ .

Для вычисления достоверности различия между исходными данными и данными, полученными после того или иного воздействия на животных, используют одну из вышеприведенных формул.

Результаты можно статистически обработать с использованием микрокалькулятора «Электроника БЗ-34» с введением программы «Варан-1» для определения следующих показателей:  $M$  — средняя арифметическая;  $(\pm m)$  — ошибка средней арифметической;  $KB$  — коэффициент вариации;  $t$  — коэффициент достоверности.

В современных условиях для статистической обработки цифровых данных нашли широкое применение персональные компьютеры с использованием пакетов прикладных программ «Микро-стат», «Диагност», «Statgraphic» и др., с учетом критериев Стьюдента — Фишера.

В биологии результаты экспериментов принято считать достоверными при  $p < 0,05$ .

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Становление и развитие патологической физиологии в России.
2. Патологическая физиология в эпоху научно-технического прогресса.
3. Уровни исследований в патологической физиологии.

## ЛИТЕРАТУРА\*

Алиев А. А. Оперативные методы исследований сельскохозяйственных животных. — Л.: Наука, 1974.

Жаров А. В., Налетов Н. А., Савойский А. Г. Словарь ветеринарно-медицинских патологоанатомических и патофизиологических терминов. — М.: МГАВМИБ, 1994.

Моделирование заболеваний /Под ред. С. В. Андреева. — М.: Медицина, 1973.

Петленко В. П., Царегородцев Г. И. Философия медицины. — Киев: Здоровье, 1979.

## Т е м а 2 ОБЩАЯ НОЗОЛОГИЯ

**Ц е л ь з а н я т и й.** Дать представление о сущности болезни, ее периодах и исходах.

**Задание 1.** Изучить механизм реализации патологической реакции.

**О п ы т 1.** Роль рецепторов и эфферентных нервных проводников в возникновении патологической реакции на вдыхание паров аммиака.

**М а т е р и а л ь н о е о с н а щ е н и е:** фиксационные станки для кроликов (4); тонкие длинные (15 см) иглы с белым и красным флажками на концах (8); изогнутые ножницы (2); стеклянные палочки с тампонами (4); скальпели (2); шприцы на 5 мл с иглой (2); металлические коробочки (2 × 3 × 5 см) с крючком (2); 5%-ный спиртовой раствор йода (10 мл); 0,5%-ный раствор новокаина (20 мл); нашатырный спирт (10 мл); подопытные животные: кролики (4).

**П о с т а н о в к а о п ы т а.** Двух кроликов фиксируют животом вверх на операционных столах. У первого из них тщательно выстригают шерсть на шее, кожу смазывают 5%-ным спиртовым раствором йода. Делают разрез по средней линии длиной 3,5—4 см. Тупым путем осторожно раздвигают мышцы, избегая кровотечений, так как излившаяся кровь, попадая на нервные пучки, затрудняет их препаровку.

Левый и правый нервно-сосудистые пучки, лежащие вдоль трахеи, извлекают на поверхность. Под сонные артерии подводят толстую нить (тонкая может повредить стенку кровеносного сосуда). Поднимая сосуд за нить, в соединительной ткани, натягивающейся вслед за ней, можно четко видеть (при хорошем освещении) три тонких нервных стволика. Самый толстый из них (ярко-белой окраски) — блуждающий нерв. Его аккуратно отпрепаровывают. Препаровку ведут сначала на одной, а затем на другой стороне. Оба нерва отпрепаровывают на длину в 1,5—2 см, подводят под них лигатуры и опускают в операционный разрез.

---

\*Здесь и далее указана дополнительная литература. Основная — учебник «Патологическая физиология сельскохозяйственных животных» (С. И. Лютинский. — М.: Колос, 2001).



Затем у обоих животных выстригают шерсть в области IV ребра, несколько влево от средней линии грудной кости, где наиболее сильно ощущается сердечный толчок. Шерсть состригают также в средней трети правой реберной дуги. Подготовленные участки кожи смазывают йодом и проводят подкожную инфильтрационную анестезию 0,5%-ным раствором новокаина. Спиртом протирают острые концы игл и вводят одну из них (с красным флажком) интактному кролику в толщу сердечной мышцы верхушки левого желудочка, а другую иглу (с белым флажком) — в область диафрагмы. По колебаниям красного флажка следят за деятельностью сердца, по колебаниям белого — за дыхательными движениями.

К ноздрям кролика на 3—5 с подносят тампон, смоченный нашатырным спиртом. Отмечают резкое замедление частоты дыхания и сокращения сердечной мышцы. Тампон отводят, следят за восстановлением дыхания и сердечной деятельности. Эту процедуру повторяют 2—3 раза.

Студенты выдвигают, а преподаватель подтверждает гипотезы о возможном механизме влияния паров аммиака на дыхание и сердечную деятельность. Для подтверждения или опровержения выдвинутых гипотез могут быть использованы следующие методические приемы:

- блокада рецепторного аппарата слизистой оболочки носовой полости новокаином;

- трахеотомия и изучение влияния паров нашатырного спирта, пропущенных через трахеотубус, на слизистую оболочку трахеи, бронхов, альвеол;

- осуществление «мнимого дыхания» с помощью пропускания воздуха с аммиаком только через верхние дыхательные пути трахеотомированного кролика;

- перерезка тройничного нерва, иннервирующего верхние дыхательные пути;

- охлаждение блуждающих нервов;

- вдыхание паров нашатырного спирта предварительно наркотизированным кроликом.

Реализуя эти методические приемы для доказательства гипотез, выдвинутых студентами, проводят следующие эксперименты.

Левую ноздрю кролика закрывают ватным тампоном, а в правую закапывают 5%-ный раствор новокаина. Через 3—5 мин к носу животного вновь подносят тампон с нашатырным спиртом. Реакции со стороны сердца и дыхательных мышц нет. После изъятия тампона из левого носового хода и поднесения к ноздрям химического раздражителя вновь отмечают ответную патологическую реакцию организма животного.

После демонстрации кратковременного воздействия раздражителя на рецепторный аппарат слизистой оболочки носа и соответствующей рефлекторной реакции тампон с нашатырным спиртом

держат у носа кролика более продолжительное время — 60—90 с. Наблюдают, как после первоначального замедления темпа сердечных сокращений и дыхания постепенно восстанавливаются деятельность сердца и сократительная способность дыхательных мышц. В этом случае отмечают, что вредоносный химический фактор (аммиак) начинает беспрепятственно поступать в дыхательные пути, где болезнетворно действует на легочную ткань, и затем поступает в кровь.

Для дальнейшего подтверждения гипотезы о рефлекторном влиянии раздражителя на эффекторные органы проводят следующее. Берут кролика с предварительно отпрепарированными блуждающими нервами, вводят ему флажки, подносят к ноздрям тампон с нашатырным спиртом и убеждаются в наличии реакции, которую наблюдали у предыдущего животного. Затем подтягивают за лигатуры оба блуждающих нерва и укладывают их на крючок, припаянный к металлической коробочке, в которой находится лед. Спустя 8—10 мин с момента охлаждения нервных проводников вновь подносят химический раздражитель к носу кролика и убеждаются в исчезновении ранее четко выраженной патологической реакции в виде торможения дыхания и сердечной деятельности. После этого оба блуждающих нерва освобождают от лигатур, возвращают на место, кожную рану закрывают непрерывным швом разволокненной шелковой нитью. По мере согревания и восстановления проводимости нервными проводниками отмечают появление рефлекторной реакции у животного.

**Оформление протокола опыта.** Описать методику проведения эксперимента, динамику наблюдавшихся ответных реакций на химический раздражитель. Выдвинуть собственную гипотезу, объясняющую возникновение патологической реакции, и возможные доказательства ее правомочности. Сделать научно обоснованные выводы о путях реализации патологической реакции.

**Опыт 2.** Однотипность патологических реакций при действии различных вредоносных раздражителей.

**Материальное оснащение:** стеклянные воронки (4); шприцы с иглой (4); 20%-ное камфарное масло (2 мл); свежеполученная желчь (2 мл); подопытные животные: белые крысы (4).

**Постановка опыта.** Берут двух крыс живой массой 200—250 г. Одной крысе внутрибрюшинно вводят 1 мл камфарного масла, подогретого до температуры тела, другой — субдурально 0,2 мл желчи. Каждую крысу помещают под отдельную стеклянную воронку. Наблюдают за общим состоянием и поведением обеих подопытных животных. Уже через 2—3 мин у обеих крыс появляется однотипная клиническая картина: общее беспокойство, чрезмерное возбуждение, переходящее в клоникотонические судороги, которые характеризуются произвольными ритмичес-

кими мышечными сокращениями и расслаблениями (клонические судороги), чередующимися с длительными произвольными сокращениями поперечнополосатых мышц (тонические судороги).

**Оформление протокола опыта.** Занести в тетрадь ход опыта. Описать клиническую картину последствий воздействия камфарного масла и желчи. Проанализировать механизм действия примененных раздражителей. Сделать выводы.

**Опыт 3.** Характер ответных двигательных реакций на многократное раздражение кожи лягушки растворами хлористоводородной кислоты.

**Материальное оснащение:** штативы (15); стеклянные стаканчики (18); водопроводная вода (2500 мл); препаровальные иглы (15); полоски фильтровальной бумаги (100); секундомеры (4); пинцеты анатомические (15); 0,25-, 0,5- и 1,5%-ный растворы хлористоводородной кислоты (по 250 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Спинальную лягушку закрепляют на штативе в височем положении. Кожу бедра последовательно раздражают 0,25-, 0,5- и 1,5%-ной хлористоводородной кислотой, после каждого раздражения смывая кислоту водой. Отмечают скорость ответной реакции на каждый раздражитель. Затем наносят, не смывая, несколько раз подряд 1,5%-ный раствор кислоты на то же место, выдерживая интервалы между раздражениями в 20 с. Отмечают, что при многократном раздражении одного и того же места ответная реакция на раздражитель отсутствует, он начинает действовать болезненно.

**Оформление протокола опыта.** Записать ход эксперимента. Фиксировать время возникновения двигательной реакции при раздражении кожи хлористоводородной кислотой разной степени разведения. Сделать вывод об изменениях чувствительности рецепторов кожи после многократного действия раздражителя.

**Задание 2.** Изучить возможность оживления животного после наступления клинической смерти.

**Опыт 1.** Оживление кошки после смертельной электро травмы.

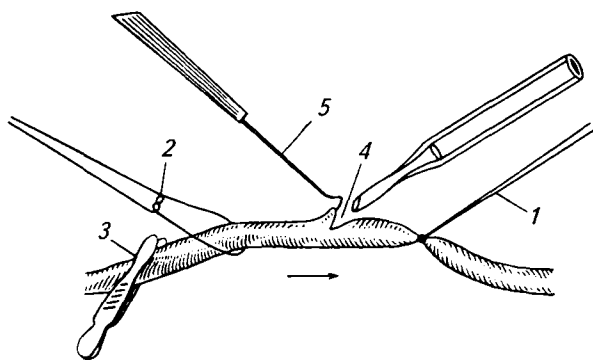
**Материальное оснащение:** электрокимографы с удлинителем (2); ртутные манометры (2); капсулы Маррея (2); отметчики времени (2); трахеотубусы (2); хирургические наборы (2); полиэтиленовые сосудистые канюли (2); лабораторные трансформаторы (2); электрошнуры с пластинчатыми электродами (2); секундомеры (2); аппараты для искусственного дыхания (2); эфир для наркоза (50 мл); 40%-ный раствор глюкозы (60 мл); 0,9%-ный раствор натрия хлорида (100 мл); раствор гепарина (500 ЕД в 1 мл) (1 мл); раствор адреналина (1 : 1000) (2 мл); подопытные животные: кошки (2).

**Постановка опыта.** Предварительно подбирают взрослую кошку, у которой исключена беременность. Животное фикс-

сируют на операционном столе под эфирным наркозом. На правой передней и задней левой конечностях тщательно выстригают шерсть, накладывают слой марли, смоченной изотоническим раствором натрия хлорида. Поверх марли помещают и фиксируют изоляционной лентой пластинчатые латунные электроды размером  $1,5 \times 2$  см. В области шеи готовят операционное поле. С помощью послойного разреза обнажают трахею, тупым путем отпрепаровывают сонную артерию. В разрез трахеи вставляют стеклянный трехходовой трахеотубус, соединяют один его конец резиновой трубкой с капсулой Маррея, расположенной на штативе электрокимографа. Сонную артерию перевязывают ближе к голове, ниже накладывают сосудистый зажим 3 (рис. 16). Недалеко от лигатуры 1 делают косой надрез 4 стенки артерии, куда вводят полиэтиленовую канюлю соответствующего диаметра и фиксируют ее наложением второй лигатуры 2. Приготовленную канюлю (рис. 17) заполняют изотоническим раствором натрия хлорида с добавлением гепарина и присоединяют ее с помощью трубок, наполненных аналогичным раствором, к ртутному манометру, писчик которого подводят к ленте кимографа.

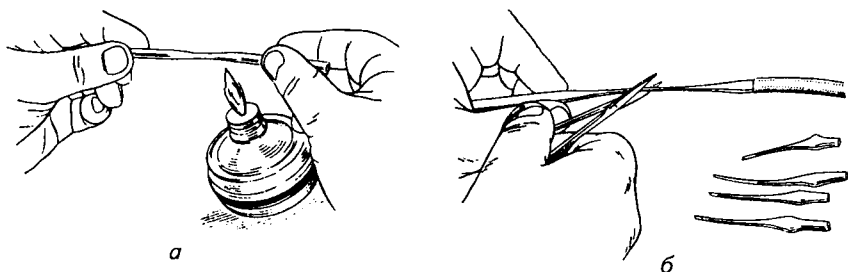
Во время подготовки животного к опыту постоянно следят за глубиной наркоза.

В течение 3—5 мин на ленте кимографа регистрируют дыхательные движения и уровень артериального давления. На фоне регистрации исходной кимограммы на 5 с включают подаваемый электрический ток частотой 50 Гц, напряжением 127 В. Наблюдают за дыхательными движениями и падением уровня артериального давления. О наступлении клинической смерти судят по полной остановке дыхания, прекращению сердечных сокращений и падению артериального давления до нулевой отметки. Ки-



**Рис. 16. Введение сосудистой канюли в сонную артерию:**

1 — лигатура, наложенная на краниальную часть артерии; 2 — лигатура для фиксации канюли в сосуде; 3 — сосудистый зажим; 4 — косой надрез артерии; 5 — сосудистый крючок



**Рис. 17. Изготовление полиэтиленовой сосудистой канюли:**

*а* — расплавление и вытягивание полиэтиленовой трубки; *б* — формирование канюли

мограф останавливают, по секундомеру следят за временем. Оживление начинают спустя 4—5 мин после наступления клинической смерти.

С этой целью к трахеотубусу подключают аппарат искусственного дыхания, ритмичным сжатием грудной клетки осуществляют закрытый массаж сердца, не переставая массировать сердце и делать искусственное дыхание; помощник экспериментатора (студент) вводит в сонную артерию 0,4 мл адреналина, разведенного в 3 мл изотонического раствора натрия хлорида. После этого в артерию дополнительно вводят 30 мл теплого (37—38 °С) 40%-ного раствора глюкозы. Спустя 7—8 мин от начала оживления (а иногда и позднее) экспериментатор начинает ощущать через грудную стенку сокращения сердечной мышцы. С этого момента вновь регистрируют артериальное давление, но продолжают поддерживать искусственное дыхание до полного восстановления функции дыхательного центра, что происходит обычно несколько позднее, чем восстановление сердечной деятельности.

После восстановления в полном объеме самостоятельных дыхательных движений, сердечной деятельности и уровня артериального давления, что четко фиксируется на ленте кимографа, трахеотубус удаляют, разрез трахеи закрывают швом, сонную артерию ниже канюли перевязывают, саму канюлю вынимают. Операционную рану закрывают непрерывным швом. Кошку отвязывают, конечности освобождают от электродов. Наблюдают за поведением животного.

**Формлине протокола опыта.** Занести в тетрадь последовательность подготовки к опыту, ход эксперимента. Вклеить фрагмент кимограммы. Зафиксировать продолжительность клинической смерти. Описать мероприятия по реанимации животного. Отметить время восстановления сердечной деятельности и время начала самостоятельного полноценного дыхания. Сделать вывод о возможности оживления после клинической смерти, связанной с электротравмой.

## Опыты 2. Оживление кошки после тотальной кровопотери.

**Материальное оснащение:** электрокимографы с удлинителем (2); капсулы Маррея (2); столики для фиксации кошки (2); ртутные манометры (2); хирургические наборы (2); полиэтиленовые канюли разного диаметра (8); весы для животных (1); электрокардиографы (2); аппараты для искусственного дыхания (2); трахеотубусы (2); отметчики времени (2); 0,9%-ный раствор натрия хлорида (200 мл); раствор гепарина (5000 ЕД в 1 мл) (1 мл); раствор адреналина (1 : 1000) (1,5 мл); 40%-ный раствор глюкозы (100 мл); эфир для наркоза (100 мл); подопытные животные: кошки (2).

**Постановка опыта.** Кошку, находящуюся под эфирным наркозом, привязывают к операционному столу вниз спиной. Готовят поле операции в области шеи и паха.

Обнажают бедренные вену и артерию. В кровеносные сосуды ввязывают полиэтиленовые канюли. Через разрез кожи по медиальной линии шеи отпрепаровывают сонную артерию, вводят и фиксируют сосудистую канюлю, которую заполняют физиологическим раствором и соединяют с ртутным манометром. На грудную клетку накладывают манжетку, соединенную трубкой с капсулой Маррея для регистрации дыхания. Под кожу конечностей вводят игольчатые электроды от электрокардиографа.

После предварительной подготовки регистрируют дыхание, артериальное давление, исходную электрокардиограмму. На фоне записи дыхания и артериального давления проводят кровопускание из бедренной артерии. Изливающуюся кровь собирают в стерильный цилиндр с гепарином. При определении степени кровопотери исходят из того, что у кошки общее количество крови к массе тела составляет 5,5 %.

Оживление начинают спустя 3—5 мин после прекращения сердечной деятельности. Реанимацию осуществляют введением всей собранной крови через бедренную вену. Трахеотубус, вставленный через рот в трахею, подключают к аппарату искусственного дыхания. Одновременно проводят закрытый массаж сердца. В сонную артерию вводят 0,4 мл адреналина, разведенного в 3 мл физиологического раствора, а затем 30 мл теплого (37—38 °С) 40%-ного раствора глюкозы. Сначала восстанавливается сердечная деятельность, поднимается артериальное давление, а затем начинает функционировать дыхательный центр. На ленте кимографа записывают дыхание, артериальное давление, снимают ЭКГ. Сосуды перевязывают, канюли вынимают, на операционные раны накладывают швы, извлекают трахеотубус, кошку отвязывают и наблюдают за ее поведением.

**Оформление протокола опыта.** Описать подготовку и проведение опыта. Занести в тетрадь продолжительность клинической смерти, время восстановления деятельности сердца и дыхания после начала процедур по реанимации. Вклеить и проанализировать отрезки электрокардиограммы, полученной в исходном состоянии, в период клинической смерти и после восста-

новления жизнедеятельности. Сделать вывод о возможности оживления животных после смертельной кровопотери.

**Опыт 3.** Оживление кошки после наступления клинической смерти, вызванной асфиксией.

**Материальное оснащение:** электрокимографы с удлинителем (2); ртутные манометры (2); капсулы Маррея (2); электроотметчики (2); сосудистые канюли (2); трахеотубусы (2); микрофоны с репродуктором (2); аппараты для искусственного дыхания (2); столики для фиксации кошки (2); хирургические наборы (2); 0,9%-ный раствор натрия хлорида (100 мл); раствор гепарина (5000 ЕД в 1 мл) (1 мл); 5%-ный раствор йода (10 мл); раствор адреналина (1 : 1000) (1 мл); 40%-ный раствор глюкозы (60 мл); эфир для наркоза (50 мл); подопытные животные: кошки (2).

**Постановка опыта.** Кошку, наркотизированную эфиром, фиксируют на операционном столике. В области шеи готовят поле операции. После разреза по средней линии в сонную артерию вводят канюлю, соединенную с ртутным манометром. В трахею через разрез вставляют и фиксируют стеклянный трахеотубус, одним концом соединенный с капсулой Маррея. В месте наибольшего ощущения сердечного толчка крепят микрофон, соединенный с репродуктором. На ленте кимографа регистрируют дыхание и артериальное давление, прослушивают тоны сердца, которые у кошки хорошо слышны. Затем пинцетом Пеана зажимают резиновую трубку, надетую на трахеотубус, в результате чего прекращается поступление воздуха в дыхательные пути животного. Вызывают гипоксическую асфиксию, которую продолжают до тех пор, пока не прекратятся дыхание и сердечная деятельность. О прекращении последней судят по падению артериального давления и прекращению слышимости сердечных тонов.

Спустя 3—5 мин после констатации клинической смерти приступают к реанимации: подключают аппарат искусственного дыхания, проводят закрытый массаж сердца, в сонную артерию вводят 0,4 мл раствора адреналина (1 : 1000) и 30 мл 40%-ного раствора глюкозы.

Возобновление сердечной деятельности устанавливают по звучанию сердечных тонов и подъему артериального давления. В последующем восстанавливается дыхательный акт. После регистрации на ленте кимографа дыхательных движений и артериального давления, прослушивания сердечных тонов перевязывают сонную артерию, вынимают сосудистую канюлю, удаляют трахеотубус, зашивают трахею, отвязывают микрофон, освобождают кошку из станка и наблюдают за ее поведением.

**Оформление протокола опыта.** Описать подготовку к эксперименту, его проведение. Перечислить мероприятия, проводимые для оживления кошки. Проанализировать механизм их воздействия на организм. Сделать вывод о возможности восстановления жизнедеятельности животного после асфиксии.

## ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

1. Понятие о болезни. 2. Представление о болезни на разных исторических этапах развития ветеринарной медицины. 3. Вклад отечественных ученых (С. П. Боткина, И. М. Сеченова, В. В. Пашутина, И. И. Мечникова, И. П. Павлова, Н. Н. Сиротинина и др.) в развитие материалистического учения о болезни. 4. Критика идеалистических, метафизических, антинаучных представлений о болезни. 5. Основные периоды болезни. 6. Представление о смерти клинической и смерти биологической. Признаки смерти. 7. Общие принципы классификации болезней. 8. Наследственно обусловленные и врожденные болезни. 9. Ремиссия болезни, рецидив, обострение, осложнение болезни. 10. Общие принципы профилактики болезней сельскохозяйственных животных.

## ЗАДАЧИ

1. Во время переболевания рожей (острого течения) у свиньи возникло осложнение в виде эндокардита. Произошла деформация двухстворчатого клапана. Как следует расценивать такую патологию у животного: как патологический процесс или патологическое состояние?

2. У заболевшей коровы выявлены следующие признаки: плохой аппетит, снижение молочной продуктивности, животное больше лежит, ректальная температура  $40,3^{\circ}\text{C}$ , дыхание — 29 дыхательных движений в 1 мин, частота сердечных сокращений — 86 в 1 мин. К какому периоду болезни следует отнести подобное состояние животного, чем он характеризуется?

3. Собака длительное время болела серозно-фибринозным плевритом с образованием спаек между висцеральным и костальным листками плевры. После рассасывания экссудата и наступления клинического благополучия владелец спрашивает: выздоровело ли животное? Что следует ему ответить?

4. В результате сдавливания трахеи животное приняло боковое положение, прекратилось дыхание, артериальное давление упало, сердце перестало функционировать. С момента асфиксии прошло 4 мин. Какая наступила смерть: биологическая или клиническая? Что такое реанимация и какие мероприятия к ней относятся?

5. У собаки хирургически была удалена раковая опухоль молочной железы, однако спустя 8 мес появились новые очаги бластоматозного роста. Как следует определить такой исход болезни?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Исторические аспекты учения о болезни.
2. Специфические и неспецифические изменения при болезни.
3. Влияние domestikации и промышленного скотоводства на заболеваемость животных.

## ЛИТЕРАТУРА

- Адо А. Д. Вопросы общей нозологии. — М.: Медицина, 1985.
- Налетов Н. А., Белоусов А. А. Современное состояние учения о смерти животных. — М., 1984.
- Саркисов А. С., Пальцев М. А., Хитров А. И. Общая патология человека. — М., 1995.
- Уразаев Н. А. Биогеоценоз и болезни животных. — М.: Колос, 1978.



## Тема 3

### ОБЩАЯ ЭТИОЛОГИЯ

**Цель занятий.** Сформировать представление об общих причинах возникновения болезней и условиях, ограничивающих или усугубляющих действие причины.

**Задание 1.** Выявить влияние факторов внешней среды и состояния организма животного на возникновение кислородной недостаточности.

**Опыт 1.** Влияние температурного фактора на развитие кислородной недостаточности у мышей.

**Материальное оснащение:** колбы на 100 мл с притертой пробкой (6); ртутные термометры (6); стеклянные чашки (6); секундомеры (2); снег или мелко наколотый лед (3 кг); пинцеты анатомические (2); разогретый парафин (150 г); секундомеры (2); подопытные животные: мыши (6).

**Постановка опыта.** Трех взрослых мышей-самцов, близких по массе, помещают в три стеклянные колбы одинаковой вместимости. Обращают внимание на характер дыхания, окраску лапок, хвоста, поведенческие реакции. Затем колбы закрывают пробками, которые быстро заливают подогретым парафином. Одну колбу тотчас помещают в чашку со снегом или льдом ( $3-5^{\circ}\text{C}$ ), другую — в сосуд с теплой водой ( $38-40^{\circ}\text{C}$ ), третью ставят в пустую чашку при комнатной температуре ( $17-20^{\circ}\text{C}$ ). За заданной температурой следят по показаниям термометра, поддерживают ее постоянной. Ведут наблюдение за состоянием подопытных животных. Отмечают динамику изменений дыхания, поведения, внешнего вида животных, находящихся в разных температурных условиях, но имеющих один и тот же объем поглощаемого кислорода. Следят за изменениями окраски кончика носа, ушей, хвоста. С помощью секундомера определяют продолжительность жизни подопытных мышей.

**Оформление протокола опыта.** Описать условия эксперимента. Внести результаты наблюдений над животными. Объяснить механизм более быстрой гибели мыши, содержащейся при температуре среды  $38-40^{\circ}\text{C}$ , по сравнению с двумя остальными. Сделать выводы о роли температурного фактора в развитии гипоксии.

**Опыт 2.** Влияние наркоза на развитие острой кислородной недостаточности у мышей.

**Материальное оснащение:** стеклянные колбочки на 100 мл (2); пробки к колбам (2); шприцы на 1 мл с иглой (2); пинцеты анатомические (2); секундомеры (2); 70%-ный раствор этилового спирта (10 мл); 1%-ный раствор гексена (0,5 мл) или 10%-ный раствор уретана (1,5 мл); подопытные животные: мыши (4).

**Постановка опыта.** Берут две мыши близкой массы (20—25 г) и одного пола. Первой подкожно вводят свежеприготов-

ленный 1%-ный раствор гексенала из расчета 3 мл на 100 г живой массы. Вторая мышь — интактная, служит контролем. Спустя 10 мин после инъекции и наступления глубокого наркоза обеих мышей помещают в стеклянную колбочку, которую герметично закрывают пробкой.

В исходном состоянии и в ходе эксперимента подсчитывают число дыхательных движений, отмечают динамику изменений окраски носа, ушей, хвоста у обеих мышей, находящихся в замкнутом пространстве. С помощью секундомера определяют время остановки дыхания у контрольной и наркотизированной мышей.

**Оформление протокола опыта.** Записать последовательность подготовки и проведения эксперимента. Описать проявление признаков гипоксии у мышей после помещения их в герметизированный сосуд. Зафиксировать скорость гибели одной и второй мышей. Объяснить причину более быстрой гибели интактной мыши по сравнению с наркотизированной.

**Опыт 3.** Выживание птиц в условиях гипоксии.

**Материальное оснащение:** стеклянные колпаки (500 см<sup>2</sup>) (2); настольные стекла (2); вазелин (50 г); подопытные животные: воробьи (8).

**Постановка опыта.** Берут стеклянный колпак, нижнюю кромку тщательно притирают с помощью вазелина к настольному стеклу. Под колпак, сдвинув его на край стола, впускают птицу (воробья), помеченную резиновым колечком, надетым на лапку. Следят за поведением птицы в герметично замкнутом пространстве, отмечают динамику изменения частоты и глубины дыхания. Когда у птицы появится тяжелая одышка, а крылья опустятся вниз, колпак осторожно сдвигают на край стекла и в него впускают вторую птицу. Наблюдают за их поведенческими реакциями, общим состоянием, характером дыхания. Вскоре обнаруживают, что вновь запущенная птица погибает, определяют по секундомеру время ее гибели (первый воробей живой). Затем поочередно подсаживают к живой птице еще несколько воробьев. Все они быстро погибают, а первоначально запущенный остается жить. Засекают скорость гибели каждой птицы.

**Оформление протокола опыта.** Записать последовательность проведения эксперимента. Зафиксировать внешнее проявление гипоксии у подопытных птиц. Отметить продолжительность жизни в ограниченном пространстве вновь запускаемых туда птиц. Объяснить механизм обнаруженных явлений. Сделать выводы о роли адаптации к неблагоприятным условиям внешней среды.

**Задание 2.** Изучить роль внешних условий в переохлаждении организма.

**Материальное оснащение:** электротермометры (2); стеклянные цилиндры (4); стеклянные банки на 10 л (2); смесь снега с натрия хлоридом (6 кг); стеклянные стаканы (2); подопытные животные: мыши (4).

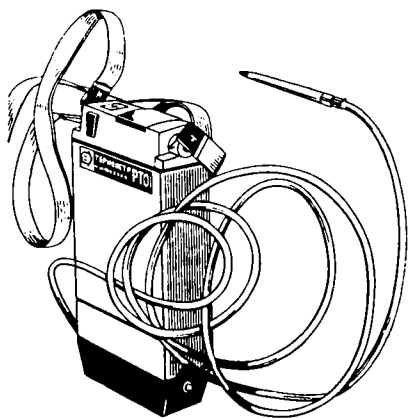


Рис. 18. Электротермометр РТ-01

**Постановка опыта.** В опыт берут двух взрослых однополых мышей живой массой 20—25 г. С помощью электротермометра (рис. 18) у обоих животных измеряют температуру. Одну мышь опускают в воду для увлажнения шерстного покрова и кожи, другая остается интактной. Каждую мышь помещают в отдельный стеклянный цилиндр, на дно которого кладут картонный кружок. Оба цилиндра предварительно помещают в высокую стеклянную банку, заполненную охлаждающей смесью (2 части снега и 1 часть натрия хлорида). Цилиндры погружают на такую глубину, чтобы мыши находились ниже верхней кромки снега. При таянии снега, смешанного с натрия хлоридом, температура внутри цилиндров снижается до нуля и ниже.

Таким образом, на обеих мышах действует один и тот же фактор — низкая температура среды, но исходное состояние их разное. У одной кожа сухая, у другой влажная. Через каждые 5 мин мышей извлекают для измерения температуры тела и вновь возвращают в условия холода. Обращают внимание на поведение животных, состояние носа, ушей, хвоста, лапок. Сразу после начала опыта по переохлаждению мыши активно двигаются, подпрыгивают, цвет перечисленных частей тела бледно-розовый, затем подвижность уменьшается, появляется мышечная дрожь, шерсть взъерошивается, животные становятся малоподвижными, вялыми. Температура тела понижается. У мыши со смоченным шерстным покровом гипотермия возникает быстрее, у нее происходит отморожение хвоста, кончиков ушей.

**Оформление протокола опыта.** Описать условия постановки эксперимента. Данные измерения температуры тела (ректальной) занести в таблицу 7.

#### 7. Ректальная температура при развитии гипотермии у мышей

Состояние кожного покрова подопытного животного	Ректальная температура, °С				Исход
	исходная	через 5 мин	через 10 мин	через 15 мин	

Сухое

Влажное

Объяснить причину более интенсивного понижения температуры тела у животного с влажной кожей. Охарактеризовать динамику изменений поведенческих реакций, состояние периферических частей тела у обеих мышей. Проанализировать полученные данные. Сделать выводы.

## ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

1. Представление об этиологии болезней. 2. Классификация этиологических факторов, способных вызвать болезнь. 3. Роль причины в возникновении болезни. 4. Внешние условия, усугубляющие или ограничивающие действие болезнетворных факторов на организм животных. 5. Критика идеалистических представлений (монокауализм, конституционализм, кондиционализм и др.) в этиологии. 6. Влияние domestikации на возникновение болезней у животных. 7. Механические факторы как причины болезней. 8. Физические факторы как причины болезней. 9. Химические факторы как причины болезней. 10. Биологические факторы как причины болезней.

## ЗАДАЧИ

1. В приспособленном, слабо освещенном помещении, где содержали телят без привязи, были высокая относительная влажность, слабый воздухообмен, повышенная концентрация углекислого газа, аммиака, сероводорода, оксида углерода. Подстилку своевременно не убрали. Животных содержали скученно, на несбалансированном и недостаточном по калорийности рационе. Ранней весной у животных появились признаки трихофитии. При лабораторном исследовании диагноз подтвердился. Какая причина вызвала появление стригущего лишая среди телят? Что следует понимать под этиологией болезни?

2. К настоящему времени многие нозологические единицы, казавшиеся одной болезнью, разделены на ряд новых. Например, все больше суживается круг болезней, входящих в понятие «диспепсия». В специальные нозологические формы выделен целый ряд незаразных и инфекционных болезней новорожденных телят, вызываемых, например, рота- и коронавирусами диареи, другими вирусами. Вероятно, в скором времени совсем исчезнет единое понятие о таких болезнях, как рак, геморрагический диатез и др. Как это можно объяснить с точки зрения этиологии болезней?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Диалектико-материалистическая концепция этиологии.
2. Причины и условия возникновения болезней животных.

## ЛИТЕРАТУРА

- Петленко В. П., Струков А. И., Хмельницкий О. К. Детерминизм и теория причинности в патологии. — М.: Медицина, 1978.
- Петрович С. В. Микотоксикозы животных. М.: Росагропромиздат, 1991.
- Серов В. В. Общепатологические подходы познания болезни. — Саратов, 1992.
- Уразаев Н. А. и др. Эндемические болезни сельскохозяйственных животных. — М.: Агропромиздат, 1990.
- Чернух А. М. Современные представления об этиологии и патогенезе наиболее часто встречающихся заболеваний внутренних органов. — М.: Медицина, 1983.

## Тема 4

### ОБЩИЙ ПАТОГЕНЕЗ

**Цель занятий.** Изучение причинно-следственных отношений в механизме заболеваний.

**Задание 1.** Изучить ответную реакцию организма при действии одних и тех же факторов на различные рефлексогенные зоны.

**Опыт.** Особенности влияния адреналина на артериальное давление у кошки в зависимости от путей его введения.

**Материальное оснащение:** электрокимографы с удлинителем (2); ртутные манометры (2); отметчики времени (2); столики для фиксации (2); хирургические наборы (2); сосудистые полиэтиленовые канюли (6); шелковая нить (1 м); шприцы на 1 мл с иглой (2); 5%-ный спиртовой раствор йода (20 мл); 0,9%-ный раствор натрия хлорида (200 мл); раствор гепарина (5000 ЕД в 1 мл) (3 мл); 20%-ный раствор уретана (40 мл); раствор хлористоводородного адреналина (1 : 10 000) (20 мл); подопытные животные: кошки (2).

**Постановка опыта.** Эксперимент проводят на взрослой кошке. Вечером, накануне занятий, животному внутривенно вводят 20%-ный раствор уретана из расчета 5 мл раствора на 1 кг массы тела и помещают в теплое место. Утром кошку, находящуюся в глубоком наркозе, привязывают к операционному столику вверх животом. На шее и в области внутренней поверхности бедра готовят операционное поле. Разрезав кожу по средней линии шеи, обнажают сонную артерию и вяжут в нее полиэтиленовую сосудистую канюлю соответствующего диаметра. Ее заполняют физиологическим раствором с гепарином и присоединяют к ртутному манометру для регистрации артериального давления. Правый и левый блуждающие нервы отпрепаровывают и берут на лигатуры. Второй разрез кожи делают в области внутренней поверхности бедра. Тупым путем отпрепаровывают бедренную вену и бедренную артерию. Подводят под каждый сосуд толстые шелковые нити. Ведут запись артериального давления на медленно вращающемся барабане кимографа. Набирают в шприц раствор адреналина (1 : 10 000) и последовательно, в определенной очередности, вводят по 0,5 мл в различные участки тела животного. Каждую последующую инъекцию проводят лишь тогда, когда прекратился вазомоторный эффект от предыдущей. Последовательность введения следующая: сначала адреналин вводят в вену через прокол в ее стенке, затем — под слизистую оболочку носовой перегородки, в бедренную артерию, прокалывая иглой ее стенку, в икроножную мышцу, внутривенно, в плевральную полость, подкожно, вновь в бедренную вену. Затем перерезают оба блуждающих нерва и вновь вводят адреналин в бедренную вену.

В каждом случае точно определяют латентный период действия адреналина, высоту подъема артериального давления и продолжительность эффекта.

**Оформление протокола опыта.** Дать краткое описание подготовки и хода эксперимента, последовательность введения адреналина. Обработать кимограмму, цифровые данные внести в таблицу 8.

#### 8. Данные кимограммы в зависимости от путей введения адреналина

Место введения адреналина	Латентный период	Максимальный подъем давления, мм рт. ст.	Длительность эффекта, мин
Бедренная вена			
Подслизистая оболочка			
носовой перегородки			
Бедренная артерия			
Мышца			
Брюшная полость			
Полость плевры			
Под кожу			
В бедренную вену до			
ваготомии			
В бедренную вену после			
ваготомии			

Полученный материал проанализировать, объяснить механизм ответных реакций. Сделать выводы о зависимости прессорной реакции сосудов от места введения адреналина.

**Задание 2.** Изучить роль барьеров и компенсаторных механизмов в ответной реакции на действие вредоносного фактора.

**Опыт 1.** Демонстрация гематозэнцефалического и офтальмического барьеров у крысы.

**Материальное оснащение:** клетки для фиксации крыс (7); шприцы на 2 мл с иглой (7); кюветы (2); наборы инструментов для вскрытия (2); стеклянные воронки (2); эфир для наркоза (20 мл); 1%-ный раствор трипановой сини (3 мл); подопытные животные: белые крысы (2).

**Постановка опыта.** Крысу живой массой 200—250 г помещают в фиксационную клетку таким образом, чтобы хвост был снаружи. В хвостовую вену шприцем с тонкой иглой вводят 1%-ный раствор трипановой сини. Животное помещают под стеклянную воронку. Через 30—40 мин туда же кладут ватный тампон, обильно смоченный эфиром. После наступления смерти крысы ее вскрывают. Обращают внимание на окрашивание тканей животного (слизистые и серозные оболочки органов, мышцы, рыхлая соединительная ткань, интима сосудов, паренхима внутренних органов) в синий цвет. Неокрашенными остаются спинномозговая жидкость, ткань головного и спинного мозга, а также стекловидное тело задней камеры глаза.

**Оформление протокола опыта.** Записать ход эксперимента. Внести результаты патологоанатомического вскры-

тия. Объяснить причину отсутствия краски в ликворе и в содержимом задней камеры глаза. Сделать выводы.

**Опыт 2.** Компенсация дыхания при удалении легких у лягушки.

**Материальное оснащение:** большие стеклянные воронки (15); пинцеты анатомические (15); иглы хирургические (15); нитки хлопчатобумажные (1 катушка); ножницы глазные (15); кюветы (15); эфир для наркоза (50 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушку помещают на кювету под стеклянную воронку соответствующего размера. Наблюдают за поведением лягушки, подсчитывают число дыхательных движений в 1 мин. Под воронку кладут ватку, смоченную эфиром. Лягушку, находящуюся под легким эфирным наркозом, берут в руки. В верхней трети туловища глазными ножницами делают боковой разрез грудобрюшной стенки длиной около 1 см. Разрез проводят очень аккуратно, чтобы избежать травмирования легочной ткани. Выдавливают легкое, слегка нажимая на брюшную стенку. Легкое слегка подтягивают анатомическим пинцетом, на основание накладывают две лигатуры, между которыми делают разрез. Удаляют легкое. Операционную рану закрывают наложением непрерывного шва. Такую же операцию делают и с противоположной стороны. После удаления обоих легких лягушку вновь помещают под воронку и следят за ее состоянием. Обращают внимание на то, что после резекции легких животное продолжает жить. Через 20 мин подсчитывают дыхательные движения, изучают динамику изменений частоты и глубины дыхания. При содержании животного в среде с низкой температурой воздуха (3—5 °С) оперированную лягушку демонстрируют студентам в течение нескольких дней.

**Оформление протокола опыта.** Занести в тетрадь данные об исходном состоянии лягушки, частоте дыхания. Описать операцию по резекции легких и последующее состояние животного. Объяснить механизмы, позволяющие лягушке оставаться живой после удаления обоих легких. Определить вид компенсации.

## **ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ**

1. Сущность понятия «патогенез». 2. Причинно-следственные отношения в генезе болезни. 3. Основное звено патогенеза. 4. Местное и общее в патогенезе. 5. Специфическое и неспецифическое (общее) в патогенезе. 6. Влияние вида, породы, возраста, пола животных на возникновение и течение болезни. 7. Внешние барьеры. 8. Внутренние барьерные системы. 9. Саногенез. Механизм восстановления нарушенных функций. 10. Компенсация.

## ЗАДАЧИ

1. При тимпании (вздутии) рубца у коровы развиваются одышка, цианоз конъюнктивы, резко ослабляется моторика преджелудков, прекращаются жвачка, отрыжка, сдавливаются крупные кровеносные магистрали, нарушается общая циркуляция крови, с повышением внутрибрюшного давления диафрагма давит на органы грудной полости, возникают гипоксемия и гипоксия. Каковы причинно-следственные отношения при данном заболевании? Что является главным звеном патогенеза возникающих расстройств?

2. От коровы, больной бруцеллезом, родился теленок. Спустя 6 мес после рождения у теленка обнаружена положительная реакция на бруцеллез. Правоммерно ли считать патологию, выявленную у теленка, наследственным заболеванием?

3. В ветеринарную лечебницу поступила корова с признаками закупорки пищевода инородным телом. У животного отмечали обильное слюнотечение, вздутие рубца, цианоз слизистых оболочек, частое поверхностное дыхание, пульс слабого наполнения. Общее состояние угнетенное, животное не реагировало на внешние раздражители.

Были проведены следующие лечебные мероприятия: сделан прокол рубца троакаром и выведены газы, извлечено инородное тело (клубень картофеля) из пищевода, подкожно инъецированы сердечные препараты, через рот заданы лекарства, стимулирующие моторику преджелудков и подавляющие бродильные процессы. Какие из названных лечебных процедур можно отнести к патогенетической терапии, какие к этиотропной, какие к симптоматической?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Биологические ритмы в патологии.
2. Роль наследственности в генезе болезней животных.
3. Современные представления о старении.

## ЛИТЕРАТУРА

Анохин П. К. Узловые вопросы теории функциональных систем. — М.: Наука, 1980.

Дупленко Ю. К. Старение: очерки развития проблемы. — Л.: Наука, 1985.

Ефимов Б. Л. Биологические ритмы в норме и патологии. — Алма-Ата, 1981.

Зайчик А. Ш., Чурилов П. А. Основы общей патологии. — СПб., 1994.

Налетов Н. А., Белоусов А. А. Современное состояние учения о смерти (танатология) животных. — М.: MBA, 1984.

Петухов В. Л., Жигачев А. И., Назарова Г. А. Ветеринарная генетика с основами вариационной статистики. — М.: Агропромиздат, 1985.

## Тема 5

### ДЕЙСТВИЕ БОЛЕЗНЕТВОРНЫХ ФАКТОРОВ НА ЖИВОТНЫЙ ОРГАНИЗМ

**Цель занятий.** Рассмотреть патогенное действие высокой и низкой температуры, измененного барометрического давления, электрического тока, рентгеновских, ультрафиолетовых лучей, излучений лазера на организм животных.



**Задание 1.** Изучить патогенное влияние повышенной и пониженной температуры на организм подопытных животных.

**Опыт 1.** Ожог кожи на ухе кролика.

**Материальное оснащение:** клетки для кроликов (2); операционные столики (2); асбестовая бумага (4 × 4) (2 куска); пробирки с водой, подогретой до 90 °С (2); водяные бани с водой, подогретой до 55 °С (2); рефлекторы с лампой (2); изогнутые ножницы (2); подопытные животные: кролики (4).

**Постановка опыта.** Подбирают крупного (массой тела 2,5 кг и более) кролика белой масти. Ожог кожи на ухе проводят двумя способами.

В первом случае кролика помещают в решетчатую деревянную клетку с выведенной наружу головой. На внутренней поверхности уха выстригают волосы и прикладывают к ней кусок асбестовой бумаги с вырезанным отверстием. На незащищенную поверхность уха (через отверстие в асбесте) действуют горячей водой (90 °С) в течение 2—3 с. Горячую воду предварительно наливают доверху в пробирку, обернутую марлевой салфеткой, а потом подносят ее к коже уха.

Во втором случае кролика фиксируют спинкой вниз на операционном столике. Дистальную половину свешивающегося уха ровно на 3 мин погружают в водяную баню, нагретую до 55 °С.

Ушные раковины с полученным ожогом рассматривают в проходящем свете от рефлектора. Сразу же наблюдают картину артериальной гиперемии. За счет расширения артерий и капиллярной сети происходит покраснение. Артериальная гиперемия переходит затем в венозную. Появляются отеки, точечные кровоизлияния. Верхние слои эпидермиса отторгаются, образуются волдыри, наполненные серозным экссудатом.

На 3—5-е сутки появляются очаги некроза, и животное можно продемонстрировать на следующем занятии (через неделю).

**Оформление протокола опыта.** Записать в тетрадь условия эксперимента. Описать динамику изменений состояния тканей ушной раковины. Объяснить наблюдаемые явления. Сделать выводы.

**Опыт 2.** Биоэлектрическая активность сердца крысы при внешнем перегревании.

**Материальное оснащение:** станки для крыс (2); большие стеклянные воронки (2); электрокардиографы (2); кюветы (2); термостаты (2); электротермометры (2); 10%-ный раствор натрия хлорида (180 мл); эфир для наркоза (30 мл); подопытные животные: крысы (2).

**Постановка опыта.** Крысу массой тела 250—300 г помещают под стеклянную воронку, где находится вата с эфиром. При легком эфирном наркозе крысу фиксируют на станке животом вверх. На лапки накладывают электроды — электротехнические зажимы, которые легко соединяются со штекерами проводов

от электрокардиографа, не травмируя тканей. Перед наложением электродов шерсть обильно смачивают мыльным раствором, между кожей и зубчатой поверхностью зажима помещают слой марли, увлажненной 10%-ным раствором натрия хлорида. Накладывают электроды согласно схеме, изображенной на панели прибора. Вначале записывают контрольный милливольт, который должен соответствовать 10-миллиметровому отклонению писчика. Его фиксация на ленте кардиографа должна предшествовать записи электрокардиограммы и завершать ее.

Запись электрокардиограмм ведут с таким расчетом, чтобы каждый студент мог получить отрезок ленты не менее чем с 6—8 сердечными циклами для индивидуальной обработки. Визуально определяют частоту дыхания в 1 мин, электротермометром измеряют ректальную температуру. Животное с фиксированными электродами помещают в термостат, где поддерживают температуру в пределах 45—50 °С. Во время перегревания животного через каждые 10 мин регистрируют ЭКГ, измеряют ректальную температуру, подсчитывают число дыхательных движений в минуту. При повышении температуры тела до 43—44 °С прекращают воздействие высокой температуры на организм животного и начинают изучать динамику восстановления температуры тела, дыхания, деятельности сердца.

**Оформление протокола опыта.** Записать условия проведения эксперимента. Вклеить и обработать электрокардиограммы. Внести в соответствующую таблицу данные о температуре, дыхании, частоте сердечных сокращений, электрокардиографические показатели, полученные до перегревания, во время гипертермии и после действия повышенной температуры. Проанализировать результаты эксперимента. Сделать выводы.

**Опыт 3.** Влияние повышенной температуры окружающей среды на сердечную деятельность лягушки.

**Материальное оснащение:** электрокимографы с удлинителем (2); рычажки Энгельмана (2); электроотметчики (2); пробковые дощечки (2); ножницы глазные (2); пинцеты изогнутые (зубные) (2); эмалированные кюветы (2); раствор Рингера для холоднокровных (50 мл); вода (30 °С); 10%-ный раствор этилового спирта (60 мл); подопытные животные: лягушки (2).

**Постановка опыта.** Лягушку наркотизируют погружением в 10%-ный раствор этилового спирта. После наступления наркоза с помощью булавок ее прикрепляют брюшком вверх к препаровальной дощечке, которую помещают в эмалированную кювету. Хирургическим пинцетом захватывают складку кожи в области проекции сердца и срезают ее. Под грудную кость подводят препаровальную иглу и слегка ее приподнимают. Глазными ножницами перерезают ключицы на их границе с грудными конечностями, грудную кость иссекают. Мышцы, идущие к внутренней поверхности грудины, также иссекают. Тонким изогнутым (зубным) пинцетом захватывают сердечную сумку, разрезают ее в на-

правлении продольной оси сердца, перерезают уздечку, идущую от сердечной сумки к задней поверхности желудочка. К верхушке сердца прикрепляют серфин, соединенный тонкой нитью с плечом рычажка Энгельмана. На движущейся ленте кимографа чернильными писчиками регистрируют кардиограмму и с помощью электроотметчика наносят отметку времени (1 с) на кимограмму. Исходную запись сокращения сердца ведут при комнатной температуре, периодически увлажняя его раствором Рингера, набранным в пипетку, чтобы предохранить от высыхания. При комнатной температуре сердце лягушки сокращается 46—52 раза в 1 мин.

Получив устойчивую кардиограмму и подсчитав число сердечных сокращений в 1 мин, на брюшко и задние лапки накладывают слой ваты, которую обильно и часто смачивают водой, подогретой до 30 °С. Время начала воздействия тепла отмечают стрелкой на ленте кимографа. Продолжая вести запись, обращают внимание на изменение ритма, силы и частоты сердечных сокращений. После достижения максимальных показателей вату убирают, воду из кюветы выливают, следят за восстановлением деятельности сердца. После того как деятельность сердца восстановится, опыт можно продолжить и сопоставить влияние перегревания с переохлаждением. Для этого лягушку обкладывают снегом или толченым льдом. Следят за деятельностью сердца. При достижении минимальных показателей холодовый раздражитель убирают и вновь следят за восстановлением сократительной способности миокарда. Определяют время восстановления частоты сердечных сокращений.

**Оформление протокола опыта.** Записать в рабочую тетрадь ход эксперимента. Вклеить фрагменты кардиограммы, отражающей различные состояния сердца. Подсчитать результаты и внести данные по изменению сердечных сокращений под влиянием тепла и холода. Объяснить генез изменений сердечной деятельности.

**Опыт 4.** Влияние внутреннего переохлаждения на сердечную деятельность кролика.

**Материальное оснащение:** деревянные решетчатые клетки (2); резиновые зевники для кролика (2); пищеводные зонды (2); двухходовые краны (2); сосуды Дьюара на 500 мл (2); электрокардиографы (2); электротермометры (2); вода, охлажденная до 5 °С (300 мл); подопытные животные: кролики (2).

**Постановка опыта.** Для проведения эксперимента подбирают крупного кролика (массой тела 2,5 кг и более). Животное помещают в деревянную решетчатую клетку, измеряют ректальную температуру электротермометром с цифровой индикацией. На конечности накладывают электроды по стандартной схеме и регистрируют электрокардиограмму с помощью одноканального электрокардиографа ЭКПСЗТ-4 или «Малыш». Записывают 10—12 сердечных циклов, а в начале и конце регистрации — контрольный милливольт.

Для внутреннего охлаждения в желудок животному через эластичный пищеводный зонд вводят охлажденную до  $5^{\circ}\text{C}$  воду из расчета 50 мл на 1 кг массы тела. С этой целью берут сосуд Дьюара вместимостью до 500 мл, заполняют его водой соответствующей температуры в заранее рассчитанном количестве. В горлышко сосуда вставляют резиновую пробку с пропущенными через нее двумя стеклянными трубочками. Одну из них, опущенную до дна сосуда, соединяют резиновой трубкой с помощью двухходового крана с пищеводным зондом. Вторую стеклянную трубку соединяют с резиновыми шарами, необходимыми для создания повышенного давления в сосуде.

Затем животному через отверстие резинового зевничка, вставленного между челюстями, осторожно вводят в пищевод до желудка эластичный резиновый зонд, слегка смазанный вазелином. Убеждаются в том, что зонд находится в пищеводе, а не в трахее, и открывают двухходовой кран. Вода нужной температуры в заданном количестве за 1—2 мин поступает из сосуда в желудок, а оттуда частично в кишечник. Об окончании поступления воды из сосуда судят по ее уровню в стеклянной отводящей трубке. Как только туда начнут поступать пузырьки, кран немедленно закрывают, чтобы исключить попадание воздуха в желудок. После введения воды зонд осторожно извлекают, изо рта вынимают резиновый зевничок. Через 5 мин измеряют ректальную температуру и записывают электрокардиограмму. Измерение температуры тела и электрокардиографию вновь повторяют через 15, 30, 45, 60 мин после процедуры внутреннего охлаждения. Полученные данные сопоставляют с исходными.

При обработке электрокардиограмм (II отведение) обращают внимание на величину зубцов, продолжительность интервалов, частоту сердечных сокращений, их ритмичность, направление зубцов от изопотенциальной линии.

**Оформление протокола опыта.** Записать последовательность хода опыта. Обработать электрокардиограммы, отрезки вклеить в тетрадь, данные, полученные в ходе эксперимента, занести в таблицу 9.

#### 9. Показатели электрокардиограммы кролика при внутреннем переохлаждении

Время регистрации, мин	Температура тела, $^{\circ}\text{C}$	Показатели электрокардиограммы							
		вольтаж зубцов, мВ			длительность интервалов, с				частота сердечных сокращений
		P	R	T	P—Q	QRST	T—P	P—P	

Исходное  
Через 5  
Через 15  
Через 30  
Через 45  
Через 60

Сопоставить показатели температуры тела, частоту сердечных сокращений, вольтаж основных зубцов и продолжительность интервалов, полученные после внутреннего охлаждения, с исходными. Проанализировать экспериментальный материал. Сделать выводы.

#### *Опыт 5. Медикаментозная гипотермия у кролика.*

**Материальное оснащение:** фиксационные столики (2); шприцы на 5 мл с иглой (2); электротермометры ветеринарные (2); электрокардиографы одноканальные (2); 0,25%-ный раствор аминазина (5 мл); 70%-ный этиловый спирт (15 мл); подопытные животные: кролики (2).

**Постановка опыта.** Кролика массой тела более 2,5 кг фиксируют на столике брюшком вверх. Под кожу конечностей вводят игольчатые электроды от электрокардиографа по традиционной схеме. Снимают исходную электрокардиограмму, визуально определяют число дыхательных движений в 1 мин, электротермометром измеряют ректальную температуру. Получив исходный фон, в краевую вену уха вводят 0,25%-ный раствор аминазина, подогретого до температуры тела, из расчета 0,6 мл на 1 кг массы. В результате внутривенной инъекции аминазина с первых же минут развивается глубокая гипотермия. Через каждые 15 мин после введения препарата в течение 1,5—2 ч снимают ЭКГ, определяют число дыхательных движений в 1 мин, измеряют температуру в прямой кишке. Температура тела под влиянием введенного препарата снижается на 3 °С и более.

**Формливание протокола опыта.** Записать в тетрадь наименование препарата, введенного кролику, а также дозу, форму применения. Вклеить электрокардиограммы, полученные в ходе опыта, обработать их. Результаты эксперимента свести в таблицу, построить графики. Объяснить механизм гипотермии. Сделать выводы.

#### *Опыт 6. Моделирование отморожения кожи уха кролика.*

**Материальное оснащение:** клетки для кролика (2); кюветы (2); ножницы изогнутые (2); электротермометры (2); секундомеры (2); рефлекторы с лампой (2); пробирки с замороженной водой (2); подопытные животные: кролики (2).

**Постановка опыта.** Кролика белой масти массой тела 2 кг и более помещают в фиксационную клетку. Тщательно выстригают шерсть с кожи средней трети наружной поверхности уха. Рассматривают состояние кровеносной системы подготовленного участка в проходящем свете от рефлектора. Обращают внимание на интенсивность окраски, ее равномерность, степень наполнения крупных и мелких кровеносных сосудов, измеряют температуру кожи уха.

После определения исходного состояния кровоснабжения к выстриженному участку кожи подводят пробирку со льдом, кото-

рую удерживают на поверхности уха в течение 2—2,5 мин. Наблюдают за последующими изменениями в характере кровотока, состоянием эпидермиса, следят за динамикой температурных отклонений от исходных показателей.

**Оформление протокола опыта.** Описать и объяснить особенности кровообращения, наиболее характерные для возникающего отморожения кожи первой степени. Сделать выводы.

**Опыт 7.** Влияние внешней температуры на скорость действия нейротропного яда.

**Материальное оснащение:** стеклянные банки емкостью 3 л (6); шприцы на 1 мл с иглой (2); секундомеры (2); разные термометры (4); 1%-ный раствор коразола (2 мл); подопытные животные: лягушки (6).

**Постановка опыта.** Подготовку к эксперименту начинают за 30 мин до начала занятий. Подбирают трех лягушек одного пола, близких по массе. В первую стеклянную банку наливают 3 л воды, охлажденной до 4—5 °С, во вторую — воду, подогретую до 30 °С, в третью банку — воду комнатной температуры.

В каждую из емкостей помещают по лягушке, где они должны адаптироваться к температуре среды за 30—40 мин. Следят за поддержанием уровня заданной температуры в течение всего опыта. По истечении срока адаптации лягушек каждой из них в спинной лимфатический мешок вводят 1%-ный раствор коразола по 0,8 мл на животное. После инъекций наблюдают за их поведением. С помощью секундомера определяют время наступления судорог у каждой лягушки.

**Оформление протокола опыта.** Записать условия проведения эксперимента. Описать поведение подопытных животных после введения им коразола. Зафиксировать время наступления судорог у каждой лягушки. Объяснить механизм выявленной разницы в скорости действия нейротропного яда.

**Опыт 8.** Влияние температурного режима на деятельность изолированного сердца лягушки.

**Материальное оснащение:** чашки Петри (30); ножницы глазные (15); пинцеты анатомические (15); секундомеры (4); препаровальные дощечки (15); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); раствор Рингера для холодно-кровных животных (500 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушку, обездвиженную наркозом, помещают на препаровальную дощечку. Иссекают грудную кость. Обнажают сердце, освобождают его от эпикарда и удаляют, пересекая сосуды как можно дальше от предсердий, чтобы не повредить синусный узел. Изолированное сердце помещают в чашку Петри, заполненную раствором Рингера. По секундомеру подсчитывают число сокращений в 1 мин. Анатомическим пинцетом сердце переносят в другую стеклянную чашку, где температуру жид-

кости поддерживают в пределах 2—5 °С. Спустя 3—5 мин после помещения изолированного сердца в холодную среду определяют частоту сокращений. Затем его переносят в чашку с жидкостью комнатной температуры и ждут восстановления сокращений до исходных величин. Прикладывают пробирку с толченым льдом к стенке желудочков и убеждаются, что местное охлаждение не влияет на частоту сердечных сокращений.

После наблюдений за сократительной способностью изолированного сердца в условиях низкой температуры его перемещают в чашку Петри, наполненную раствором Рингера, подогретым до 30 °С. Через 3—5 мин подсчитывают число сердечных сокращений и вновь переносят сердце в соответствующий раствор комнатной температуры. По достижении исходного ритма сердечных сокращений к стенке желудочка прикладывают пробирку, наполненную водой температурой 30 °С. На такое воздействие сердечная мышца не отвечает тахикардией.

**Оформление протокола опыта.** Записать общую схему проведения эксперимента. Отметить полученные результаты. Выписать, на сколько ударов в 1 мин увеличивается число сердечных сокращений при подъеме температуры на 1 °С. Объяснить действие тепла и холода на сократительную способность сердечной мышцы. Объяснить, почему местное действие тепла и холода не повлияло на деятельность всей сердечной мышцы.

**Задание 2.** Изучить патогенное действие измененного барометрического давления на организм подопытных животных.

**Опыт 1.** Влияние пониженного барометрического давления на организм крыс.

**Материальное оснащение:** аппараты Комовского со стеклянным толстостенным сосудом и манометром (2); кислородные подушки (2); корнцанги (2); подопытные животные: крысы (4).

**Постановка опыта.** Крысу массой тела 100—200 г помещают в стеклянный сосуд, соблюдая герметичность. Визуально наблюдают за поведением животного, рефлексами на окружающие раздражители, определяют число дыхательных движений в 1 мин. Установив исходные данные, начинают откачивать воздух из сосуда, создавая пониженное атмосферное давление с соответствующим снижением парциального давления кислорода. Давление понижают ступенчато: сначала до второго (условная высота 5,4 км над уровнем моря), а затем до третьего (условная высота 12 км) уровней (табл. 10).

Отмечают характер изменений поведения и внешнего вида животного на разной высоте над уровнем моря. Обращают внимание на сохранение жизни за счет компенсаторных реакций у животного на условной высоте 5,4 км и явления декомпенсации у крысы, находящейся на условной высоте 12 км. У последней наблюдают общее угнетение, одышку, синюшное окрашивание ушей, хвоста,

## 10. Уровень пониженного барометрического давления

Уровень	Давление		Высота, км	Парциальное давление O <sub>2</sub>		Насыще- ние Hb кислоро- дом, %	Кислород	
	мм рт. ст.	кПа		мм рт. ст.	кПа		парциаль- ное давление O <sub>2</sub> , мм рт. ст.	насыщение Hb кислоро- дом, %
1	760	101,3	0	160	20,0	96	760	100
2	385	51,3	5,4	80	10,0	92	385	97
3	144	19,19	12,0	30	3,75	55	144	96

лапок, кончика носа. Животное лежит на боку, появляются судороги. В этот момент из кислородной подушки через трехходовой кран под колпак подают чистый кислород. Следят за восстановлением нарушенных функций у животного.

Берут вторую крысу, помещают в сосуд, но уже в атмосферу чистого кислорода. Вновь ступенчато понижают атмосферное давление до тех же уровней, что и в предыдущем случае. Следят за общим состоянием, поведенческими реакциями, внешним видом животного.

**Оформление протокола опыта.** Описать последовательность эксперимента, результаты визуальных наблюдений за животными, находящимися в заданных условиях среды, но подвергшихся одному и тому же воздействию пониженного барометрического давления. На основании полученных данных сделать заключение об основных патогенетических механизмах высотной болезни.

**Опыт 2.** Влияние гипобарии на организм новорожденного мышонка, взрослой и наркотизированной мыши.

**Материальное оснащение:** аппарат Комовского со стеклянным толстостенным сосудом и манометром (2); секундомеры (2); пинцеты анатомические (2); ножницы глазные (2); кюветы (2); 1%-ный раствор гексенала (1 мл); подопытные животные: мыши (6).

**Постановка опыта.** Для опыта подбирают трех мышей: двух взрослых (однополых, с равной массой тела) и новорожденную. Одной взрослой мыши вводят подкожно 1%-ный раствор гексенала из расчета 1 мл раствора на 100 г массы тела. После наступления у нее наркотического состояния всех трех мышей помещают в стеклянный сосуд (рис. 19). Обращают внимание на внешний вид, окраску периферических частей тела, поведенческие реакции. После обеспечения герметичности начинают постепенно откачивать воздух, снизив атмосферное давление до 144 мм рт. ст. (19,19 кПа), что соответствует 12 км условной высоты над уровнем моря. Визуально наблюдают за состоянием подопытных животных. Фиксируют время наступления судорог у интактной мыши и момент прекращения дыхания. Сразу же начинают доводить дав-



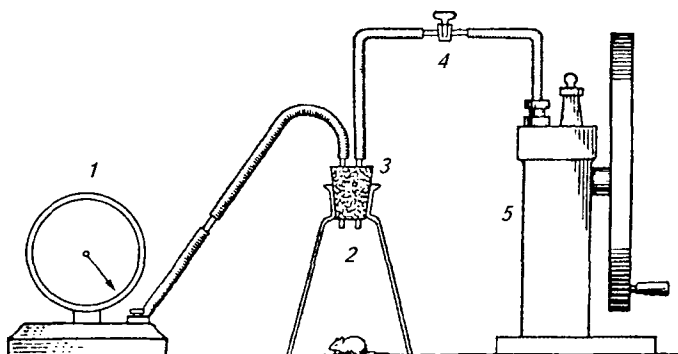


Рис. 19. Схема установки для проведения опытов по заданию 2:

1 — вакуумметр; 2 — толстостенный стеклянный сосуд; 3 — резиновая пробка; 4 — трехходовой кран; 5 — насос Комовского

ление до 760 мм рт. ст. (100 кПа). Убеждаются в гибели контрольной мыши. Вторая взрослая мышь, находящаяся под наркозом, и новорожденный мышонок выживают.

Проводят патологоанатомическое вскрытие погибшей мыши. Изучают изменения в органах и тканях, возникшие в результате воздействия пониженного атмосферного давления.

**Оформление протокола опыта.** Зарисовать схему проведения эксперимента. Описать клиническую картину состояния животных в условиях гипобарии. Запротоколировать патологоанатомические изменения, обнаруженные у погибшей мыши. Объяснить механизмы повреждающего действия гипобарии на организм и последующие компенсаторные механизмы. Сделать выводы.

**Задание 3.** Изучить повреждающее действие электрического тока на организм подопытных животных.

**Опыт 1.** Зависимость степени электротравмы от путей прохождения тока через организм лягушки.

**Материальное оснащение:** кимографы (15); рычажки Энгельмана (15); препаровальные дощечки (15); универсальные питающие устройства (15); серфины (15); раствор Рингера для холоднокровных (150 мл); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Наркотизированную и обездвиженную лягушку фиксируют булавками, воткнутыми в конечности, на пенопластовой дощечке брюшком вверх. Препаровальной иглой приподнимают кожу в области грудной кости и вырезают кожный лоскут. Подводя конец иглы под мечевидный отросток и приподняв его, иссекают небольшой участок грудной кости, вскрывают перикард и осторожно обнажают сердце. Перерезают

уздечку, идущую от сердечной сумки к задней поверхности желудка. Захватывают верхушку сердца серфином, соединенным нитью с рычажком Энгельмана для записи кардиограмм на барабане кимографа.

На фоне исходной механокардиограммы, не отключая кимографа, начинают пропускать через игольчатые электроды, попеременно прикладываемые к лапкам, сначала постоянный ток в течение 3 с, а затем переменный (50 Гц) электрический ток напряжением 3 В. В качестве источника тока используют универсальное питающее устройство. Вначале лягушку подключают к электрической цепи через обе задние конечности, затем спустя 2—3 мин через правую переднюю и правую заднюю лапки, потом через правую переднюю и левую заднюю. В конце опыта пропускают переменный электрический ток (3 В) через основание и верхушку сердца, вызывая фибрилляцию и остановку сокращений сердечной мышцы.

После прекращения действия тока кончиками пальцев или анатомическим пинцетом проводят массаж сердечной мышцы, чтобы восстановить ее деятельность и вывести из состояния фибрилляции.

**Оформление протокола опыта.** Подсчитать и занести в тетрадь число сердечных сокращений в 1 мин в исходном состоянии и после пропускания электрического тока через различные участки тела. Описать визуальную картину фибрилляции сердца и меры по дефибрилляции. Сделать выводы о зависимости изменений сердечной деятельности от путей прохождения электрического тока через организм.

**Опыт 2.** Значение исходного состояния животного организма при действии электрического тока.

**Материальное оснащение:** операционные столики для кроликов (4); маски для наркоза (2); изогнутые ножницы (2); лабораторные автотрансформаторы (2); вольтметры (2); амперметры (2); эфир для наркоза (50 мл); подопытные животные: кролики (4).

**Постановка опыта.** Подбирают двух одинаковых кроликов, фиксируют их на операционных столиках. Одного из животных наркотизируют, поднося к ноздрям маску с ватой, смоченной эфиром. Аккуратно, без порезов кожи, выстригают волосы на задних конечностях в области бедра. Прикладывают электроды, определяют напряжение и силу тока, вызывающие слабую ответную двигательную реакцию как у одного, так и у другого кролика. Затем кожу на выстриженных участках тщательно смачивают, снова прикладывают электроды и фиксируют минимальное напряжение и силу тока, при которых возникает двигательная реакция у интактного и наркотизированного кроликов.

**Оформление протокола опыта.** Записать данные о напряжении и силе тока, вызывающего минимальную дви-

гательную реакцию у наркотизированного и ненаркотизированного животных при воздействии через сухую и влажную кожу. Проанализировать результаты экспериментальной работы. Сделать выводы.

**Опыт 3.** Влияние этанола на изменение чувствительности крысы к электрическому току.

**Материальное оснащение:** плексигласовые клетки для крыс (2); лабораторные автотрансформаторы (2); вольтметры (2); 30%-ный раствор этилового спирта (5 мл); 0,9%-ный раствор натрия хлорида (30 мл); подопытные животные: крысы (2).

**Постановка опыта.** Берут крысу массой тела более 200 г. Помещают в плексигласовую дырчатую клетку, ограничивающую движения. Хвост оставляют снаружи. Кожу хвоста увлажняют физиологическим раствором, на его поверхность накладывают фильтровальную бумажку шириной 1 см, предварительно смоченную тем же раствором. Через бумагу наносят электрическое раздражение приложением электродов к области основания и нижней трети хвоста. Повышая напряжение, устанавливают порог чувствительности по отчетливой болевой реакции, характеризующейся движением и писком животного. Затем крысе внутривенно вводят 2 мл 30%-ного раствора этилового спирта. Через каждые 10 мин определяют порог болевой чувствительности к электрическому току.

**Оформление протокола опыта.** Описать условия проведения эксперимента. Записать в тетрадь показатели напряжения тока, вызвавшего болевую реакцию у нормального животного и у крысы после введения в брюшную полость раствора этилового спирта. Объяснить причину снижения чувствительности.

**Опыт 4.** Рефлекторная активность спинного мозга лягушки после поражения электрическим током разной интенсивности.

**Материальное оснащение:** штативы (15); полоски фильтровальной бумаги (1 × 1,5 см) (60); препаровальные иглы (15); стаканчики с водой (15); кюветы (15); универсальные питающие устройства (15); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Обездвиженную спинальную лягушку подвешивают за нижнюю челюсть на штативе. Определяют время кислотного рефлекса, для чего на кожу бедра накладывают полоску фильтровальной бумаги, смоченной 0,5%-ным раствором хлористоводородной кислоты. Отмечают время до наступления двигательной оборонительной реакции — рефлекса Тюрка. Раздражитель смывают, помещая лапку в сосуд с водой. Вкалывают два игольчатых электрода: один под кожу в области копчика, другой в спинной мозг через затылочное отверстие. Через электроды пропускают электрический ток напряжением 5 В, частотой 50 Гц в

течение 5 с. Через 2 мин начинают многократно определять латентный период рефлекса Тюрка. После восстановления времени кислотного рефлекса через электроды вновь пропускают электрический ток, но уже напряжением 30 В в течение 5 с. Повторяют определение латентного периода рефлекса на кислотный раздражитель.

**Оформление протокола опыта.** Описать условия опыта и характер изменений рефлекторной активности подопытной лягушки после электротравмы спинного мозга различной интенсивности.

**Задание 4.** Изучить повреждающее действие лучистой энергии на организм подопытных животных.

**Опыт 1.** Фотосенсибилизирующий эффект ультрафиолетовых лучей.

**Материальное оснащение:** стеклянная пятилитровая банка (2); ртутно-кварцевые лампы (2); 1%-ный раствор эозина (5 мл); подопытные животные: белые мыши (8).

**Постановка опыта.** Подбирают четырех взрослых белых мышей одного пола и возраста. Две остаются контрольными, а двум другим подкожно инъецируют фотосенсибилизатор — по 1 мл 1%-ного раствора эозина. Этих мышей метят и помещают вместе с контрольными в стеклянную банку, над которой располагают ртутно-кварцевую лампу. Наблюдают за общим состоянием животных, их подвижностью, поведенческими реакциями, дыханием. Включают лампу и в течение 20 мин облучают мышей ультрафиолетовыми лучами. Во время облучения и в последующий период наблюдают за животными. Отмечают существенные различия в поведении и общем состоянии мышей с введенным фотосенсибилизатором по сравнению с контрольными животными.

**Оформление протокола опыта.** Записать последовательность эксперимента. В тетрадь внести результаты визуального наблюдения за животными обеих групп, облученных ультрафиолетовыми лучами. Объяснить механизм действия исследуемого фактора. Сделать выводы.

**Опыт 2.** Влияние лучей лазера на кровеносные сосуды брыжейки мыши.

**Материальное оснащение:** лазеры (2); микроскопы (МБС-9) (2); препаровальные дощечки (2); шприц на 1 мл с иглой (2); ножницы глазные (2); булавки (8); штативы (2); анатомические пинцеты (2); 1%-ный раствор гексенала (5 мл); подопытные животные: мыши (2).

**Постановка опыта.** Мышь массой тела 15—18 г наркотизируют подкожным введением 1%-ного раствора гексенала из расчета 100 мг/кг. Наркотизированную мышь фиксируют на пенопластовой дощечке с отверстием, вскрывают боковым разрезом

брюшную полость, извлекают тонкий кишечник. Брыжейку расправляют над отверстием, закрепляя стенки кишки косо воткнутыми булавками. Дощечку с животным располагают на столике стереоскопического микроскопа (МБС-9). С помощью штатива подводят и закрепляют волновод от источника низкоэнергетического лазерного излучения, такого, как гелиево-неоновый лазер ЛГН-109 мощностью 2 мВт или гелиево-неоновый лазер ЛГ-75 мощностью 25 мВт. Волновод (световод) фиксируют таким образом, чтобы луч лазера падал на избранный участок брыжейки сверху.

Просматривают ток крови по сосудам в исходном состоянии. Затем включают лазерную установку на 2—8 мин. Наблюдают за кровотоком. Обращают внимание на число функционирующих капилляров, диаметр сосудов, скорость тока крови, характер передвижения по капиллярным сосудам форменных элементов крови, целостность стенки сосудов, микрокровоизлияния, тромбообразование.

**Оформление протокола опыта.** Записать условия ведения эксперимента. Зарисовать схему кровотока в брыжейке мыши и наиболее характерные изменения, возникающие под воздействием низкоэнергетического лазерного излучения. Объяснить возможный механизм действия луча лазера.

## **ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ**

1. Определение понятия «гипертермия». 2. Чувствительность сельскохозяйственных животных различных видов к перегреванию. 3. Ожоговая болезнь. 4. Определение понятия «гипотермия». 5. Чувствительность сельскохозяйственных животных различных видов к переохлаждению. 6. Отморожение. 7. Простудные заболевания. 8. Действие повышенного атмосферного давления на организм. Кессонная болезнь. 9. Действие пониженного атмосферного давления на организм. Высотная болезнь. 10. Факторы, определяющие безвредное действие электрического тока на организм животных. 11. Видовая чувствительность животных к патогенному действию электрического тока. 12. Действие атмосферного электричества на организм животных. 13. Действие ультра- и инфразвука на организм животных. 14. Внешнее и внутреннее облучение организма животных ионизирующей радиацией. 15. Острая лучевая болезнь. 16. Механизм повреждающего действия ионизирующей радиации. 17. Патогенное действие ультрафиолетовых лучей на организм животного. 18. Повреждающее действие лучей лазера на организм животного.

## **ЗАДАЧИ**

1. Лошадь, разгоряченную быстрым бегом, напоили холодной водой. Спустя несколько дней у животного развилось острое ревматическое воспаление копыт (ревматический пододерматит). Каков патогенез возникшей болезни? Какие теории объясняют развитие простудных заболеваний?

2. У поросенка на второй день после ожога II—III степени на площади около 40 % поверхности тела наступила анурия. Какова причина прекращения отделения мочи у пораженного животного?

3. У щенков, длительное время содержавшихся на однообразном рационе в закрытом помещении, появились признаки рахита. После изменения рациона и облучения кварцевой лампой состояние щенков стало улучшаться. Каков механизм действия ультрафиолетовых лучей на растущий организм?

4. После облучения подопытной морской свинки рентгеновскими лучами в дозе 159 мКл/кг (600 Р) ее усыпили во время стадии клинического проявления острой лучевой болезни. При патологоанатомическом обследовании были обнаружены множественные кровоизлияния. Большое количество свернувшейся крови было найдено в брюшной полости. Как объяснить механизм появления множественных геморрагий после рентгеновского облучения?

5. Во время приема воды из автопоилки бычок получил смертельную электротравму вследствие контакта оголенного электрического провода с трубой системы водоснабжения. При внешнем осмотре трупа и при патологоанатомическом вскрытии ветеринарному врачу не удалось обнаружить каких-либо видимых морфологических изменений. Почему у бычка, погибшего от электротравмы, отсутствовали видимые морфологические изменения? Как объяснить причину смерти? В каком случае на поверхности тела животного, пораженного электрическим током, могут оставаться следы в виде ожога IV степени?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Механизмы радиационного поражения и восстановления.
2. Механизм действия низкоинтенсивного лазерного излучения на организм животного.
3. Повреждающее действие звукового раздражителя на организм животного.
4. Современная трактовка простудных заболеваний.

## ЛИТЕРАТУРА

Кишин В. А., Белов А. Д., Бударков В. А. Ветеринарная радиобиология. — М.: Агропромиздат, 1986.

Михайлов Н. В. Механизм лечебно-стимулирующего действия луча лазера на организм животных и повышение их продуктивности. — Казань: КГУ, 1985.

Патологическая физиология экстремальных состояний /Под ред. П. Д. Горизова, Н. Н. Сиротина. — М.: Медицина, 1973.

Романов С. Н. Биологические действие вибрации и звука. — Л.: Наука, 1991.

Юрков В. М. Влияние света на резистентность и продуктивность животных. — М., 1991.

## Т е м а 6

### ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ КЛЕТКИ

**Ц е л ь з а н я т и й.** Изучить этиологию, механизмы развития и проявление повреждений клетки.

**З а д а н и е.** Изучить изменение сорбционных свойств клеточной мембраны при повреждении клетки.

**О п ы т.** Изменение сорбционных свойств клеточных мембран при повреждении клетки.

Материальное оснащение: баня водяная с авторегулятором (1); счетные камеры с сеткой Горяева (15); покровные стекла (60); микроскопы (15); ткань капроновая (10 × 10 см) (4); салфетки марлевые (20 × 20 см) (3); стаканчики лабораторные на 25 мл (2); ножницы изогнутые (1); пинцеты анатомические (2); 3%-ный раствор молочной кислоты (0,33 моль/л) (10 мл); раствор Хенкса (50 мл); 0,5%-ный раствор трипанового синего (10 мл); взвесь клеток (5 мл); подопытные животные: мыши (2).

**П о с т а н о в к а о п ы т а.** В опыте используют культуру клеток, которые получают из селезенки или периферической крови мыши.

Для выделения клеток из селезенки мышь фиксируют в спинном положении. Обезглавливают ножницами. Через разрез брюшной стенки, который делают ножницами по средней линии, извлекают селезенку. Капсулу надрезают и содержимое выдавливают пинцетом в стаканчик с 5 мл раствора Хенкса (или другой жидкости для культивирования клеток). Затем взвесь клеток фильтруют через четыре слоя капроновой ткани (можно использовать капроновый чулок) в стаканчик с 5 мл раствора Хенкса. Фильтрат используют как взвесь клеток.

Выделение лимфоцитов из крови основано на плотности клеток. Кровь берут из вены или сердца в пробирки с гепарином (25 ЕД на 1 мл). Затем к 4 мл крови добавляют 1 мл раствора Хенкса. Разбавленную кровь наслаивают на разделяющую смесь, которая имеет плотность 1,077 и рН 7,35.

Прописей разделяющих смесей много. Для выделения лимфоцитов из крови крупного рогатого скота рекомендуют применять смесь верографина (фиколла) с дистиллированной водой (10 мл верографина, 43,1 мл дистиллированной воды, 0,45 мл гидроксида натрия 0,1 моль/л). Объемы разделяющей смеси и разбавленной крови одинаковые. На 5 мл разделяющей смеси, помещенной в центрифужную пробирку, наслаивают 5 мл разбавленной крови. Центрифугируют пробирки в течение 45 мин при 200g:

$$g = 1,1n^2R \cdot 10^{-5},$$

где  $n^2$  — скорость вращения ротора,  $\text{мин}^{-1}$ ;  $R$  — радиус ротора от центра оси до зоны седиментации; 1,1 и  $10^{-5}$  — коэффициенты пересчета.

После центрифугирования жидкость в пробирке делится на четыре слоя по направлению сверху вниз: плазма, кольцо мононуклеарных клеток (в основном лимфоцитов), верографин с примесью эритроцитов, эритроцитарная масса с примесью гранулоцитов.

Кольцо лимфоцитов отсасывают пастеровской пипеткой с оплавленным концом и переносят в центрифужную пробирку с 5 мл охлажденного до 4 °С раствора Хенкса (на 1 л дистиллированной воды 8 г хлорида калия, 0,47 г двузамещенного фосфорнокислого натрия, 0,35 г бикарбоната натрия, 0,6 г однозамещенного фосфорнокислого калия, 1 г глюкозы; рН доводят до 7,2 концентрированным раствором гидроксида натрия).

Содержимое пробирки центрифугируют 10—15 мин при 50g, надосадочную жидкость удаляют, процедуру повторяют дважды. К клеточному осадку добавляют 1 мл раствора Хенкса, клетки ресуспендируют и подсчитывают их количество в счетной камере Горяева. Для подсчета клеток во флакон из-под пенициллина вносят 0,4 мл 3%-ного раствора уксусной кислоты и 0,02 мл полученной суспензии клеток. Получают разведение 1:20. Число клеток подсчитывают в 25 больших квадратах, разделенных на малые квадраты.

Число клеток ( $X$ ) в 1 мл суспензии находят по формуле

$$X = \frac{M \cdot 4000 \cdot 20 \cdot 10^3}{400},$$

где  $M$  — сумма клеток в 25 больших квадратах.

Полученную суспензию разводят раствором Хенкса, доводят до концентрации  $2 \cdot 10^6$  клеток в 1 мл, которую используют в основном опыте. Объем раствора Хенкса ( $O$ ), необходимый для получения взвеси с содержанием  $2 \cdot 10^6$  клеток в 1 мл, определяют по формуле

$$O = \frac{X}{2} - 1,$$

где  $X$  — число клеток в 1 мл суспензии, млн.

Например,  $X = 10$  млн, тогда  $O$  составит:

$$\frac{10}{2} - 1 = 4 \text{ мл.}$$

Опыт проводят со взвесью клеток в растворе Хенкса. Повреждение клеток вызывают раствором молочной кислоты или высокой температурой. Для индикации поврежденных клеток используют раствор трипанового синего, который адсорбируется только поврежденными клетками.

Подсчет клеток ведут под средним ( $10 \times 40$ ) увеличением микроскопа. В каждом препарате подсчитывают 100 клеток с учетом среди них окрашенных. Число последних и составит процент нежизнеспособных клеток. Для большей стабильности результатов подсчет клеток ведут по всей площади сетки счетной камеры Горяева, например в квадратах по диагонали или по углам и в центре.

**Вариант 1.** На предметное стекло наносят каплю взвеси клеток и каплю раствора Хенкса. Жидкости перемешивают пастеровской пипеткой с запаянным концом. Через 5 мин в эту смесь вносят одну каплю 0,5%-ного раствора трипанового синего, жидкости пе-



ремешивают. Каплю смеси переносят на сетку счетной камеры Горяева, помещают над сеткой покровное стекло, которое притирать не требуется, и без промедления подсчитывают клетки.

**Вариант 2.** Раздавленную каплю готовят и учитывают клетки так же, как в первом варианте, но вместо капли раствора Хенкса добавляют каплю 3%-ного раствора молочной кислоты.

**Вариант 3.** Раздавленную каплю готовят и считают клетки аналогично с вариантом 1. Используют взвесь клеток, предварительно прогретую на водяной бане при температуре 43—45 °С в течение 5 мин. Результаты исследований записывают в протокол.

**Оформление протокола опыта.** Кратко описывают приготовление препарата раздавленной капли. Содержание препаратов и результаты исследования их записывают в таблицу 11. Делают выводы. В заключение отмечают изменения проницаемости цитолеммы при повреждении разными агентами, а также специфичность этих изменений.

### 11. Результаты подсчета поврежденных клеток в трех вариантах опыта

Вариант	Состав препарата	Число ядерных клеток, окрашенных в синий цвет, %
1	Взвесь клеток + раствор Хенкса	
2	Взвесь клеток + 3%-ный раствор молочной кислоты	
3	Прогретая взвесь клеток + раствор Хенкса	

### ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

1. Причины, вызывающие повреждение клетки. 2. Специфические проявления повреждения клетки. 3. Неспецифические проявления повреждения клетки. 4. Изменение содержания воды, ионов натрия и калия при повреждении клетки. 5. Медиаторы клеточного повреждения и их патофизиологическое значение. 6. Изменения органелл клетки при повреждении. 7. Патофизиологические механизмы клеточных дистрофий. 8. Защитно-компенсаторные процессы в клетке при повреждении.

### ЗАДАЧИ

1. Многие патогенные микробы и вирусы выделяют нейраминидазу — фермент, способствующий выявлению скрытых структур элементов мембраны клеток, обладающих антигенными свойствами. Что произойдет с клетками, подвергнутыми действию нейраминидазы?

2. В митохондриях сопряжены процессы окисления и фосфорилирования, синтезируются макроэргические соединения (АТФ и др.). Какие причины вызывают разобщение окисления и фосфорилирования? Каковы последствия такого разобщения?

3. Известно, что перенос веществ через плазматическую мембрану связан с затратой энергии. В условиях патологии  $\text{Na}^+$ - или  $\text{K}^+$ -зависимая аденозинтрифосфатаза может быть ингибирована. Какие изменения произойдут в этих случаях в цитоплазме? Как изменятся функции ядра, лизосом, других органелл клетки?

4. При повреждении клеток в них образуются вещества, воздействующие на другие клетки. Как называются такие вещества и какие из них наиболее изучены?

5. После серьезной механической травмы животное лежит без движения, дыхание поверхностное, на раздражения не реагирует, артериальное давление резко понижено. Как называется эта общая реакция на повреждение клеток и каков ее механизм?

6. Бактериальные эндотоксины (например, кишечнотифозной группы) способны разрушать мембраны лизосом. Какими могут быть последствия для клетки?

7. При действии высокой температуры на ткани в клетках происходит коагуляция белка. Является ли это повреждение специфическим и что происходит с клеточной мембраной?

8. При воспалительном повреждении клеток тканей холки у лошади установлено повышение температуры тела. Какой может быть связь между этими патологическими процессами?

9. Радиационное поражение сопровождается уменьшением количества клеток в периферической крови. Каков механизм повреждения клеток и какие клетки крови погибают в первую очередь?

10. Общей реакцией на повреждение клеток является стресс. Содержание каких клеток резко уменьшается в крови?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Нарушения основных функций клетки.
2. Нарушения ионной проницаемости плазматической мембраны.
3. Нарушение хранения и передачи генетической информации.

## ЛИТЕРАТУРА

Байматов В. Н., Чумаков В. Ю. Патологическая физиология органов и тканей у животных. — Абакан, 1998.

Кагава Я. Биомембраны. — М.: Высшая школа, 1985.

Карамышева В. Я. Поражение клеток при вирусных инфекциях. — М.: Медицина, 1981.

Молекулярная биология клетки. — М.: Мир, 1987, т. 5.

Седов В. В., Пауков В. С. Ультраструктурная патология. — М.: Медицина, 1981.

Фролов В. А. Патопфизиология клетки. — М., 1989.

## Т е м а 7

### РЕАКТИВНОСТЬ ОРГАНИЗМА, ЕЕ РОЛЬ В ПАТОЛОГИИ

**Ц е л ь з а н я т и й.** Изучить проявления, механизмы развития аллергии, неспецифические факторы защиты.

**Задание 1.** Изучить общее проявление анафилаксии — анафилактический шок.

**О п ы т 1.** Острый анафилактический шок у морской свинки. Специфическая десенсибилизация.

**М а т е р и а л ь н о е о с н а щ е н и е:** шприцы на 1 мл с иглами (2); ножницы (2); 70%-ный этиловый спирт (10 мл); сыворотка крови лошади (4 мл); подопытные животные: сенсibilизированные морские свинки (4).

**П о с т а н о в к а   о п ы т а.** Опыт проводят на заранее сенсибилизированных морских свинках. Для этого подбирают особей с массой тела не менее 300—350 г. За 2 нед до занятия животным вводят под кожу лошадиную сыворотку крови в объеме 0,01—0,1 мл. Одной морской свинке за 0,5 ч до введения разрешающей дозы лошадиной сыворотки в кровь инъецируют этот антиген под кожу в объеме 0,01—0,02 мл. Затем одной и другой (сенсибилизированной и десенсибилизированной) морским свинкам вводят лошадиную сыворотку в полость сердца. Для этого животное фиксируют руками в спинном положении на столе, покрытом клеенкой. Указательным пальцем левой руки фиксируют левую переднюю лапку, а большим пальцем — правую переднюю таким образом, чтобы мордочка свинки находилась под впадиной ладонной поверхности. Правой рукой фиксируют тазовые конечности. В области грудины и слева от нее выстригают шерсть, кожу протирают спиртом.

В шприц с иглой набирают сыворотку крови лошади. Иглу резким движением вкалывают слева от грудины в области сердечного толчка. Игла должна быть косо направлена в сторону правой лопатки. Глубина вкола около 15 мм. При появлении в шприце струйки крови вводят лошадиную сыворотку в объеме 0,5 мл и извлекают иглу. Морскую свинку немедленно освобождают от фиксации и наблюдают за ее поведением и развитием картины анафилактического шока. Опыт хронометрируют по минутам. Если животное погибает, его вскрывают и обращают внимание на положение легких в грудной клетке.

**О ф о р м л е н и е   п р о т о к о л а   о п ы т а.** В протоколе отмечают даты сенсибилизации и введения разрешающей дозы, а также объем использованной лошадиной сыворотки. Затем в хронологическом порядке описывают клиническую картину анафилактического шока у каждой свинки. В случае гибели свинки отмечают относительное положение сердца и легких. Делают выводы. Объясняют механизм развития анафилактического шока и проявления десенсибилизации.

**О п ы т   2.** Анафилактический шок у кролика.

**М а т е р и а л ь н о е   о с н а щ е н и е:** шприцы с иглами (2); лезвия для безопасной бритвы (2); 70%-ный этиловый спирт (10 мл); сыворотка крови лошади (4 мл); подопытные животные: сенсибилизированные кролики (2).

**П о с т а н о в к а   о п ы т а.** Эксперимент проводят на предварительно подготовленном животном. Для сенсибилизации обычно используют сыворотку крови лошади, которую вводят под кожу двукратно через 3 дня в объеме 1 мл. Сенсибилизацию осуществляют за 2—3 нед до занятий.

Разрешающую дозу сыворотки крови лошади в объеме 2—3 мл вводят в краевую вену уха кролика. Перед инъекцией шерсть в области краевой вены уха сбривают и протирают ваткой, смочен-

ной спиртом. После инъекции разрешающей дозы сыворотки наблюдают за развитием анафилактического шока в течение 30—45 мин.

**Оформление протокола опыта.** В протоколе отмечают дату и дозу первичного и повторного введения сыворотки крови лошади. Затем в хронологическом порядке описывают клиническую картину анафилактического шока. Делают выводы. Объясняют механизм развития анафилактического шока по стадиям.

### **Опыт 3. Анафилактический шок у собаки.**

**Материальное оснащение:** операционные столы для собак (2); наборы хирургических инструментов и перевязочного материала (2); шприцы на 10 мл с иглами (2); ртутные манометры (2); кимографы (2); сыворотка крови лошади (40 мл); подопытные животные: сенсibilизированные собаки (2).

**Постановка опыта.** Эксперимент проводят на заранее подготовленной собаке (сенсibilизированной). Собаку сенсibilизируют подкожным введением 3—5 мл лошадиной сыворотки, которую инъецируют с интервалом 3 дня за 3 нед до занятия.

Собаку фиксируют в спинном положении, наркотизируют. В бедренную артерию вставляют канюлю для регистрации артериального давления. Под бедренную вену подводят лигатуру. Записав исходное артериальное давление, в вену вводят сыворотку крови лошади в объеме 10 мл и делают отметку на кимограмме. Обращают внимание на частоту пульса и силу сердечных сокращений. Наблюдение ведут в течение 30—40 мин.

**Оформление протокола опыта.** В протоколе отмечают дату и дозу первичного и повторного введения анафилатогена. Зарисовывают кривую записи артериального давления. Делают выводы. Объясняют механизм изменения артериального давления при анафилактическом шоке.

### **Задание 2. Изучить местное проявление анафилаксии.**

#### **Опыт 1. Феномен Артюса (демонстрация).**

**Материальное оснащение:** кутиметры (2); ножницы (2); 70%-ный этиловый спирт (10 мл); подопытные животные: кролики с феноменом Артюса (4).

**Постановка опыта.** Для опыта подбирают четырех белых кроликов хорошей упитанности с массой тела не менее 3 кг. Для сенсibilизации кроликам под кожу в области живота или спины многократно, с интервалами в 5—6 дней вводят сыворотку крови лошади в объеме 3—5 мл. После трех-четырёх инъекций на месте введения образуется уплотнение, а после пятой-шестой развивается воспаление с кровоизлиянием и некрозом кожи в центре. Кроликов демонстрируют в разгар гиперергического воспаления.

Есть другой способ сенсibilизации, позволяющий подготовить кролика точно к назначенному дню занятий. Кроликов сен-

сенсибилизируют двукратным введением лошадиной сыворотки через 20 дней. Каждый раз под кожу вводят 1 мл сыворотки. Через 2 нед после второй инъекции сыворотки развивается сенсибилизация. За 1—2 дня до демонстрации внутрикожно (обязательно) вводят разрешающую дозу (0,2 мл) лошадиной сыворотки. На месте разрешающей инъекции развивается припухлость с кровоизлияниями и некрозом кожи.

Кролика с феноменом Артюса дежурный студент придерживает на столе. Помощник дежурного выстригает шерсть в области воспаления, а кожу протирает ваткой, смоченной спиртом. С помощью кутиметра определяют площадь припухлости, кровоизлияния, некроза и толщину кожной складки. Последнюю сравнивают с толщиной кожной складки нормальной кожи на ближайшем или симметричном участке тела. Аналогично исследуют других кроликов с феноменом Артюса.

**Оформление протокола опыта.** В протоколе описывают способ сенсибилизации и внешние признаки феномена Артюса. Зарисовывают морфологическую картину феномена и объясняют механизм его развития.

**Опыт 2.** Анафилактическая реакция сосудов брыжейки лягушки (опыт Фрелиха).

**Материальное оснащение:** резиновые пластинки (15); булавки для фиксации лягушек (15); ножницы (15); пинцеты хирургические (30); микро-скопы (15); свиная сыворотка крови (15 мл); подопытные животные: интактные лягушки (15), сенсибилизированные лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушку подготавливают за 15 дней (сенсибилизируют): под кожу вводят 1 мл сыворотки крови свиньи. Лягушку фиксируют в брюшном положении. Справа разрезают брюшную стенку, извлекают петлю кишечника и расправляют брыжейку над отверстием в пластинке. Под малым увеличением микроскопа отыскивают участок с хорошо развитой сосудистой сетью (артериолы, капилляры, вены). Получив исходные данные о состоянии кровообращения (скорость кровотока, число функционирующих капилляров, диаметр артериол, венул), на брыжейку наносят каплю свиной сыворотки. За состоянием кровообращения наблюдают в течение нескольких минут. Сначала опыт ставят на интактной лягушке, а затем — на сенсибилизированной.

**Оформление протокола опыта.** В протоколе описывают исходное состояние кровообращения в брыжейке, а затем изменения его после нанесения свиной сыворотки. Обращают внимание на различие реакции сосудов интактной и сенсибилизированной лягушки. Делают выводы. Объясняют механизм аллергической реакции сосудов.

**Опыт 3.** Анафилактическая реакция сердца сенсибилизированной лягушки.

**Материальное оснащение:** резиновые пластинки для фиксации лягушек (15); наборы хирургических инструментов (15); секундомеры (3); сыворотка крови лошади (15 мл); подопытные животные: сенсibilизированные лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушек предварительно сенсibilизируют (примерно за 20 дней до опыта) введением сыворотки крови лошади по 0,3 мл трижды через 3 дня. Лягушек берут с запасом, так как часть их погибает до занятия.

Сенсibilизированную лягушку обездвизивают разрушением спинного мозга (без декапитации), фиксируют вверх брюшком. Вскрывают грудную клетку, обнажают сердце и освобождают от перикарда. С помощью серфина, соединенного с рычажком Энгельмана, записывают на кимограмме сердечные сокращения. Затем на сердце наносят 3—5 капель сыворотки, которой сенсibilизировали лягушку, наблюдают за изменениями сердечной деятельности, обращая внимание на силу, частоту и ритмичность сокращений в динамике. После развития выраженных нарушений сердечной деятельности сердце отмывают изотоническим раствором натрия хлорида и наблюдают в течение 10—15 мин постепенное восстановление сокращений. Затем повторно на сердце наносят 3—5 капель лошадиной сыворотки и наблюдают за ним в течение нескольких минут.

**Оформление протокола опыта.** В протоколе записывают исходные показатели сердечной деятельности и их изменения в хронологическом порядке после первичного и повторного нанесения антигена на сердце. Делают выводы. Объясняют механизм развития аллергической реакции немедленного типа.

**Опыт 4.** Анафилактическая реакция изолированного отрезка кишечника сенсibilизированной морской свинки (кролика).

**Материальное оснащение:** приборы для записи сокращений изолированной кишки (2); наборы хирургических инструментов (2); раствор Тироде (500 мл); подопытные животные: сенсibilизированные морские свинки (кролики) (2).

**Постановка опыта.** Морскую свинку или кролика за 2—3 нед до занятия сенсibilизируют сывороткой крови лошади, которую вводят под кожу: морской свинке 0,1 мл однократно, кролику двукратно через 3 дня по 1 мл. Во время опыта животное обескровливают под эфирным наркозом. Вскрывают брюшную стенку и иссекают отрезок тонкого кишечника длиной 6—8 см. Отрезок несколько раз промывают в растворе Тироде ( $\text{NaCl} - 0,8\%$ ,  $\text{KCl} - 0,02$ ,  $\text{CaCl}_2 - 0,02$ ,  $\text{MgCl}_2 - 0,01$ ,  $\text{NaHPO}_4 - 0,005$ ,  $\text{NaHCO}_3 - 0,01\%$ ), подогретом до  $37^\circ\text{C}$ . Затем отрезок кишки прошивают с обоих концов толстыми нитками на стороне, противоположной брыжейке. Один конец отрезка закрепляют на изогнутой стеклянной трубке, а другой позже соединяют с рычажком Энгельмана. Отрезок кишки вместе со стеклянной трубкой поме-

щают в химический стакан с раствором Тироде таким образом, чтобы уровень раствора был несколько выше проксимального конца отрезка кишки. Температуру жидкости в течение всего опыта поддерживают в пределах 37—38 °С с помощью ультратермостата или погружением стакана в водяную баню. Через стеклянную трубку периодически пропускают кислород из подушки.

Записав исходные сокращения кишки на кимограмме, в стакан с кишкой вводят 3—4 капли нормальной лошадиной сыворотки, которой сенсibilизировали животное (донор кишки). Продолжая регистрировать двигательную функцию отрезка кишки, наблюдают изменения моторики. Затем отрезок кишки переносят в свежий раствор Тироде. Выждав, когда моторная функция кишки восстановится, на что требуется обычно 10—15 мин, в стакан с отрезком кишки повторно вносят 3—4 капли лошадиной сыворотки и в течение нескольких минут продолжают наблюдения.

**Оформление протокола опыта.** В протоколе отмечают способ сенсibilизации животного и реакцию изолированного отрезка кишечника на внесение аллергена в раствор Тироде. Описывают особенность реакции кишки на первое и второе внесение аллергена. Делают выводы. Объясняют механизм аллергической реакции кишки.

**Задание 3.** Изучить способы получения и биологическое действие цитотоксинов на гомологичные клетки.

**Опыт 1.** Влияние сперматоцитотоксических антител на спермии.

**Материальное оснащение:** микроскопы (15); предметные стекла с лункой (30); покровные стекла (90); вазелин (30 г); часовые стекла (2); скальпели (2); ножницы (2); пинцеты кровоостанавливающие (2); пипетки глазные (4); 1%-ный раствор натрия хлорида (20 мл); нормальная кроличья сыворотка (5 мл); сперматоксическая сыворотка (5 мл); подопытные животные: мыши (половозрелые самцы) (2).

**Постановка опыта.** Влияние сперматоцитотоксических антител на спермии изучают в трех висячих каплях. Входящие в них ингредиенты берут поровну: 1) взвесь сперматозоидов и изотонический раствор натрия хлорида; 2) взвесь сперматозоидов и сперматоксическая сыворотка; 3) взвесь сперматозоидов и нормальная кроличья сыворотка.

Приготовление висячей капли проводят следующим образом. Берут предметное стекло с луночкой. Вокруг луночки делают валик из вазелина. Затем на покровном стекле готовят каплю. Для этого пастеровской пипеткой наносят небольшую каплю испытуемой жидкости и такую же каплю взвеси спермиев. Время приготовления капли записывают в таблицу. Жидкости перемешивают запаянным концом пастеровской пипетки. Затем предметным стеклом касаются покровного так, чтобы капля была в центре лунки. После этого быстро переворачивают предметное стекло таким

образом, чтобы капля не стекала к краю лунки, и ставят его под микроскоп. Под увеличением в 150—200 раз рассматривают препараты и устанавливают время, в течение которого сохраняется подвижность сперматозоидов в разных каплях. Обращают внимание на изменения формы и взаимного расположения сперматозоидов.

Наблюдение можно проводить и в раздавленных каплях.

Получение сперматоксической сыворотки складывается из приготовления антигена и иммунизации кролика.

Для приготовления антигена из семенников мышей их декапируют. Семенники извлекают, освобождают от жировой ткани и оболочек. Затем взвешивают и растирают в ступке со стеклянным песком до гомогенного состояния, все время добавляя изотонический раствор натрия хлорида. Объем последнего должен быть в 4 раза больше массы семенников. Эмульсию центрифугируют в течение 4 мин при  $1000 \text{ мин}^{-1}$  (об/мин). Надосадочную жидкость переносят в колбу, которую хранят в холодильнике и используют как антиген. Все операции по приготовлению антигена проводят в условиях стерильности. Аналогично приготавливают антиген из семенников животных других видов.

С целью иммунизации кролику вводят антиген внутрибрюшинно (стерильно) через 4—5 дней по следующей схеме:

<i>Номер введения</i>	<i>Объем антигена, мл</i>
1	2
2	3
3	4
4	5
5	5

Через 8—9 дней после пятой инъекции антигена у кролика берут кровь, помещают ее в термостат при температуре  $37^\circ\text{C}$  на 1 ч. Затем сгусток крови отделяют от стенки пробирки стеклянной палочкой и пробирку помещают в холодильник на 24 ч для ретракции сгустка. Сыворотку крови отсасывают в стерильную пробирку, которую хранят в холодильнике и используют как сперматоксическую сыворотку.

Для приготовления взвеси спермиев на занятии мышь (самца) умерщвляют, извлекают семенники. Последние освобождают от жировой ткани, выделяют придатки семенников, которые переносят на часовое стекло, увлажненное раствором натрия хлорида. Придатки измельчают скальпелем и добавляют 15—20 капель 1%-ного раствора (0,17 моль/л) натрия хлорида на один придаток. В такой взвеси находится достаточная концентрация подвижных спермиев.

Оформление протокола опыта. Ход опыта, а также его результаты записывают в таблицу 12. Делают выводы.



В заключение указывают значение цитотоксинов для организма.

## 12. Влияние сперматоцитотоксических антител на спермии

Препарат	Содержание препарата	Время, ч, мин		Изменение формы, наличие агглютинации спермиев
		приготовления капли	прекращения движения спермиев	
1	Взвесь спермиев + изотонический раствор хлорида натрия			
2	Взвесь спермиев + токсическая сыворотка			
3	Взвесь спермиев + нормальная сыворотка			

**Опыт 2.** Патогенное действие гемоцитотоксинов на эритроциты.

**Материальное оснащение:** штативы для пробирок (15); пробирки бактериологические (60); пипетки измерительные на 1 и 5 мл (30); водяные бани с терморегулятором (2); центрифуги (2); 2,5%-ная взвесь эритроцитов барана (100 мл); гемолизин в рабочем титре (100 мл); комплемент в титре (100 мл); изотонический раствор натрия хлорида (700 мл); 2,5%-ная взвесь эритроцитов крупного рогатого скота, лошади, кролика (100 мл).

**Постановка опыта.** Гемоцитотоксическую сыворотку (гемолизин) против эритроцитов барана готовят на биофабриках. Для этого многократно, по определенной схеме вводят эритроциты барана кроликам. Затем последних обескровливают, из крови получают сыворотку, которую и называют гемолизин. Для консервации гемолитической сыворотки ее пополам разбавляют глицерином и запаивают в ампулы. В лаборатории перед опытом определяют титр этой сыворотки, т. е. минимальное ее количество, которое вызывает полный гемолиз 0,5 мл 2,5%-ной взвеси эритроцитов барана в присутствии 0,5 мл комплемента. Для опыта берут рабочий титр (двойную дозу гемолизина). Например, если титр гемолизина 1 : 800, то рабочий титр будет 1 : 400. Следовательно, гемолизин разводят изотоническим раствором натрия хлорида 1 : 400 и в таком разведении применяют.

В опыте используют 2,5%-ную взвесь эритроцитов. Для этого берут кровь из яремной вены и собирают ее в стерильный флакон со стеклянными бусинками на дне. Во флакон емкостью около 50 мл наливают примерно 20 мл крови. Как только взята кровь, флакон в течение 10 мин непрерывно вращают и встряхивают, чтобы кровь дефибринировалась. Кровь из флакона фильтруют через двойной марлевый фильтр и разливают в центрифужные пробирки до половины их объема. Затем в пробирки доливают изотонический раствор натрия хлорида в количестве, равном объему крови. Пробирки центрифугируют 10—15 мин при  $1500 \text{ мин}^{-1}$ , после чего

слой прозрачной жидкости отсасывают пипеткой, а пробирки вновь заполняют изотоническим раствором натрия хлорида, встряхивают и повторно центрифугируют. Эту процедуру отмывания эритроцитов от сыворотки крови повторяют трижды. Эритроциты, оставшиеся в пробирке после удаления всей надосадочной жидкости, набирают в пипетку и 2,5 мл их вносят в мерную посуду на 100 мл, изотонический раствор натрия хлорида доливают до метки. Полученную 2,5%-ную взвесь эритроцитов используют в опыте.

В качестве комплемента применяют свежую или высушенную сыворотку крови морской свинки. В зооветучреждения поступает коммерческий препарат: высушенная при низкой температуре в вакууме и запаиваемая в ампулы сыворотка крови морской свинки. Для получения свежей сыворотки крови морских свинок их выдерживают в течение 8—10 ч без корма. Кровь берут из вены уха или сердца. Если сыворотки требуется немного, то лучше взять кровь из вены уха. Ухо смазывают ксилолом, который вызывает расширение сосудов и усиленный приток крови. Затем наиболее крупную вену надрезают поперек сосуда лезвием для безопасной бритвы. Кровь собирают в чашку Петри. Если из одного надреза кровь перестает поступать, вновь смазывают ухо ксилолом и делают новый надрез. Кровь ставят в термостат на 15—30 мин при температуре 38 °С. Отделившуюся сыворотку пастеровской пипеткой отсасывают в центрифужную пробирку, а сгусток крови измельчают на кусочки и переносят в другую центрифужную пробирку. Их центрифугируют в течение 10—15 мин при 1500—2000 мин<sup>-1</sup>. Прозрачную сыворотку из первой и второй пробирок переливают в чистую пробирку и помещают на лед на 2—3 ч. Затем комплемент титруют. Комплемент нестойкий, поэтому его получают в день опыта или после обеда перед днем опыта.

Цель титрования комплемента — определить его наименьшее количество, которое вызывает полный гемолиз 0,5 мл 2,5%-ной взвеси эритроцитов в присутствии гемолизина в рабочем титре. Для этого 1 мл комплемента разбавляют 19 мл изотонического раствора натрия хлорида. Эту смесь наливают в восемь пробирок в возрастающем на 0,05 мл объеме: в первую пробирку 0,15 мл, во вторую — 0,20 мл и т. д. Затем во все пробирки доливают до объема 1,5 мл изотонического раствора натрия хлорида. После этого в каждую пробирку вносят по 0,5 мл 2,5%-ной взвеси эритроцитов и 0,5 мл гемолизина в рабочем титре. Пробирки встряхивают и ставят в термостат на 20 мин при температуре 37—38 °С. После этого штатив вынимают из водяной бани и определяют пробирку с наименьшим количеством комплемента, в которой полностью растворились эритроциты. Например, если полный гемолиз произошел в пробирках № 8, 7, 6 и 5, то титр комплемента будет составлять 0,35 мл разведения 1 : 20. Следовательно, для постановки опыта нужно взять 0,35 мл комплемента в разведении 1 : 20. Объем

комплемента в каждой пробе должен составлять 0,5 мл. Для этого к 35 мл разведения 1 : 20 (100 доз) необходимо прибавить 15 мл изотонического раствора натрия хлорида. Такое разведение комплемента будет соответствовать его титру, взятому в опыте.

*Вариант А.* Берут четыре пробирки и в каждую наливают по 0,5 мл взвеси эритроцитов одного из видов животных, прибавляют по 0,5 мл гемолизина против эритроцитов барана и вносят по 0,5 мл комплемента. Пробирки встряхивают.

Вместе с опытными ставят две контрольные пробирки № 5 и 6. В эти пробирки вводят те же ингредиенты, что и в пробирку № 4, но в пробирку № 5 вместо гемолизина вливают 0,5 мл изотонического раствора натрия хлорида, который в пробирку № 6 вносят вместо комплемента.

Штатив с пробирками помещают в водяную баню температурой 37—38 °С на 20 мин. После этого штатив вынимают из бани и просматривают пробирки, начиная с контрольных. В пробирках № 5 и 6 не должно быть гемолиза. Результаты реакции записывают в таблицу 13. Оценивают действие гемолизина по разрушению эритроцитов (гемолизу): полный гемолиз — разрушено 90—100 % эритроцитов; частичный гемолиз — разрушено менее 90 %; отсутствие гемолиза — разрушено 10 % эритроцитов и менее.

**13. Степень повреждения эритроцитов животных различных видов**

№ пробирки	Вид животного (донора эритроцитов)	Степень повреждения эритроцитов
1	Крупный рогатый скот	—
2	Лошади	—
3	Кролики	—
4	Овцы	—
5	Контроль без гемолизина	Гемолиза нет
6	Контроль без комплемента	Гемолиза нет

Степень гемолиза можно определить более точно после отстаивания в течение 12—16 ч или после центрифугирования в течение 5—10 мин при 1500—2000 мин<sup>-1</sup>.

*Вариант Б (контрольный).* Как и в варианте А, берут шесть пробирок, в которые вносят те же ингредиенты, в той же последовательности. Но на емкостях с эритроцитами проставляют условные номера таким образом, чтобы у каждого исследователя (студента) были пробы эритроцитов с неповторяющимися номерами, т. е. для 15 студентов требуется 60 проб эритроцитов с разными номерами. При этом у каждого исследователя не менее чем одна проба эритроцитов должна быть гомологичной гемолизиру. В нескольких пробах эритроцитов нужно обнаружить гомологичные клетки-мишени (того же вида животного).

**Оформление протокола опыта.** В протоколе отмечают и анализируют результаты опыта, которые записывают в таблицу 13.

Делают выводы. Объясняют специфичность цитотоксинов.

**Задание 4.** Изучить поглотительную способность клеток различных органов.

**Опыты.** Поглощение клетками различных органов лягушки полуторахлористого железа и трипановой сини.

**Материальное оснащение:** резиновые пластинки для фиксации лягушек (15); булавки для фиксации лягушек (120); шприцы на 1 мл с иглами (2); препаровальные иглы (15); ножницы (15); пинцеты анатомические (15); пинцеты хирургические (15); микроскопы (15); предметные стекла (30); стеклянные стаканчики на 25 мл (15); 1%-ный раствор полуторахлористого железа (50 мл); 5%-ный раствор соляной кислоты (100 мл); 3%-ный раствор желтой кровяной соли (100 мл); 0,1%-ный раствор адреналина (2 флакона); 0,5%-ный раствор трипановой сини (20 мл); подопытные животные: лягушки (30).

**Постановка опыта.** Лягушку обездвиживают разрушением спинного мозга без декапитации. Удерживая лягушку в левой руке, большим пальцем наклоняют ее голову вниз. Сзади от затылочной кости отыскивают углубление и правой рукой вертикально вводят иглу в субокципитальное отверстие на глубину 1—2 мм. Как только чувствуют вздрагивание лягушки, ручку иглы наклоняют вперед до параллельного с позвоночником положения. После этого иглу вращательными движениями вводят в спинномозговой канал, разрушая спинной мозг. При этом ощущают судорожные сокращения мышц с последующим их расслаблением.

**Вариант А.** Обездвиженную лягушку фиксируют в спинном положении на резиновой пластинке. Грудную клетку вскрывают, обнажают сердце, надрезают сердечную сорочку. В желудочек сердца шприцем вводят 0,2—0,3 мл 1%-ного (61 ммоль/л) раствора полуторахлористого железа. На сердце наносят 2—3 капли раствора адреналина (4,5 ммоль/л) и закрывают его влажной марлевой салфеткой. Через 10—15 мин лягушку вскрывают, ножницами нарезают кусочки органов (печени, селезенки, почек, легких, кожи, мышц). Кусочки органов помещают в стеклянную чашку, где обмывают в дистиллированной воде. После этого их кладут в стеклянный стаканчик с 5%-ным (1,37 ммоль/л) раствором соляной кислоты на 1—2 мин. В последующем кусочки промывают в 3%-ном (81,4 ммоль/л) растворе желтой кровяной соли в течение 1—2 мин. Обработанные кусочки органов помещают на предметное стекло и, прикрыв другим предметным стеклом, раздавливают.

Препараты рассматривают под малым увеличением микроскопа. Сравнивают интенсивность окрашивания кусочков различных органов в зеленый цвет, который им придает берлинская лазурь. Последняя образуется при реакции полуторахлористого железа с желтой кровяной солью в кислой среде. Так как полуторахлористое железо захватывается клетками РМС (ретикуломакрофагальная система), то по интенсивности окраски можно судить об их количестве в разных органах. Интенсивность окраски оценивается условными показателями: сильная (++), слабая (+), отсутствует (—).

*Вариант Б.* Обездвиженную лягушку фиксируют в спинном положении на резиновой пластинке. В брюшную полость шприцем вводят 0,8—1 мл 0,5%-ного раствора трипановой сини. Через 1 ч лягушку вскрывают, нарезают кусочки органов, которые промывают в дистиллированной воде. Затем кусочки раздавливают между двумя предметными стеклами и просматривают под малым увеличением микроскопа. Интенсивность окраски оценивается так же, как и в варианте А.

**Оформление протокола опыта.** В протоколе записывают ход постановки опыта и результаты исследования. Делают выводы. В заключение отмечают значение поглощения посторонних частиц клетками для защитных реакций организма.

**Задание 5.** Изучить явление и стадии фагоцитоза.

**Опыт 1.** Фагоцитоз ядерных эритроцитов перитонеальными макрофагами морской свинки.

**Материальное оснащение:** стеклянные флаконы на 50 мл с бусами (2); шприцы на 1 мл (2); центрифуги (2); центрифужные пробирки (4); обезжиренные предметные стекла (30); предметные стекла с лункой (15); покровные стекла (15); вазелин (15 г); 5%-ная взвесь гусиных эритроцитов (5 мл); краска Майя—Грюнвальда (50 мл); дистиллированная вода (150 мл); подопытные животные: гуси (2), морские свинки (2), лягушки (15).

**Постановка опыта.** Морской свинке за 24—48 ч до занятия в брюшную полость вводят 3%-ный раствор пептона или мясопептонного бульона в объеме 10 мл. Во время занятий в брюшную полость вводят 1 мл 5%-ной взвеси гусиных эритроцитов. Для приготовления 5%-ной взвеси эритроцитов гуся в сосуд со стеклянными бусами из подкрыльцовой вены берут 15—20 мл крови. Постоянным встряхиванием сосуда в течение 5 мин кровь дефибринируют и затем фильтруют через двойной слой марли. Дефибринированную кровь центрифугируют при  $1500 \text{ мин}^{-1}$  в течение 10 мин. Сыворотку крови сливают, а в пробирку до такого же уровня наливают изотонический раствор натрия хлорида и вновь центрифугируют. Раствор над осадком сливают, 5 мл осадка эритроцитов переносят в мерную посуду и доливают до 100 мл изотонический раствор натрия хлорида.

Через 15, 30, 45 мин после введения эритроцитов из брюшной полости свинки получают перитонеальную жидкость. Для этого животное фиксируют в спинном положении, выстригают шерсть по средней линии живота краниальнее лонного сращения на 3—5 см. Затем животное переворачивают головой вниз, удерживая за задние лапки. Сзади от пупка надрезают кожу и, проколов брюшную стенку стерильной пастеровской пипеткой, набирают 1—1,5 мл перитонеальной жидкости.

Для изучения фагоцитоза готовят мазок на предметном стекле и висячую каплю на покровном стекле, которое вазелином приклеивают к предметному стеклу с лункой таким образом, чтобы капля висела над лункой.

Для приготовления мазка каплю перитонеальной жидкости наносят на предметное стекло примерно на расстоянии 1 см от узкого края. Перед каплей ставят стекло с шлифованным ребром и соединяют его с каплей. Двигая шлифованное стекло к противоположному узкому краю предметного стекла, делают длинный и широкий мазок. Высохший мазок заливают краской Майя—Грюнвальда на 5 мин, добавляя равное количество дистиллированной воды и выдерживают еще 3—5 мин. После этого краску сливают, а мазок высушивают полоской фильтровальной бумаги. Препарат рассматривают под иммерсионной системой. В поле зрения обнаруживают крупные клетки — макрофаги, в цитоплазме некоторых из них четко выделяются гусиные эритроциты. Последние хорошо различимы по наличию ядер. Подсчитывают 100 макрофагов и среди них число клеток, содержащих гусиные эритроциты. Так определяют фагоцитарную активность — процент фагоцитов из 100 макрофагов. Затем находят фагоцитарное число — частное от деления числа эритроцитов, найденных в 100 макрофагах, на 100.

Для приготовления висячей капли на стекле с лункой делают ободок из вазелина в непосредственной близости от краев лунки. На покровное стекло в центре помещают каплю 1%-ного раствора нейтральрота, приготовленного на изотоническом растворе натрия хлорида. К капле раствора-индикатора прибавляют каплю перитонеальной жидкости и осторожно перемешивают запаянным концом пастеровской пипетки. Предметное стекло приклеивают к покровному так, чтобы капля оказалась под серединой лунки, но не касалась дна лунки. Затем препарат быстро поворачивают покровным стеклом вверх. Под малым увеличением микроскопа с прикрытой диафрагмой или опущенным конденсатором отыскивают край капли и на фоне желто-зеленых эритроцитов овальной формы находят красный комочек. Последний переводят в центр поля зрения и устанавливают большое увеличение (объектив 40). Красный комочек — это макрофаг, внутри которого видны ярко-красные эритроциты. В зависимости от стадии фагоцитоза макрофаг на своей поверхности может фиксировать до 10 эритроцитов и более. Внутри макрофага находятся эритроциты на разных стадиях разрушения, которые в процессе ферментолитического процесса в присутствии индикатора нейтрального красного окрашиваются в розовый, а позже в рубиново-красный цвет, что указывает на изменение реакции в кислую сторону. Свободные эритроциты и нефагоцитировавшие макрофаги окраски не меняют.

В висячей капле можно изучать также и стадии фагоцитоза, но они менее отчетливы, чем в мазке.

**Оформление протокола опыта.** Зарисовывают и описывают стадии фагоцитоза по И. И. Мечникову; указывают значение найденных показателей фагоцитоза: фагоцитарную активность и фагоцитарное число. Делают выводы. В заключение объясняют механизм фагоцитоза и его значение для организма.

## Опыт 2. Фагоцитоз частичек кармина лейкоцитами лягушки.

Материальное оснащение: шприцы на 1 мл с иглами (2); краситель кармин (1 г); фарфоровые ступки (2); микроскопы (15); предметные стекла (50); изотонический раствор натрия хлорида (20 мл); краска Майя—Грюнвальда (25 мл); дистиллированная вода (50 мл); подопытные животные: лягушки (6).

**Постановка опыта.** Кармин растирают в ступке с изотоническим раствором натрия хлорида. Полученную взвесь кармина кипятят. Лягушке в спинной лимфатический мешок или в брюшную полость вводят 0,5—1 мл взвеси кармина за несколько часов до занятия. Во время занятия из брюшной полости или спинного лимфатического мешка получают жидкость, готовят мазок, высушивают и фиксируют и окрашивают его. Под большим увеличением микроскопа (объектив 40) или иммерсионной системой обнаруживают лейкоциты, в цитоплазме которых присутствуют частички кармина.

**Оформление протокола опыта.** Зарисовывают лейкоциты, содержащие в цитоплазме частички кармина. В заключение отмечают сущность фагоцитоза в данном опыте.

## ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

1. Понятие об иммунопатологии. 2. Виды аллергии. Аллергены. 3. Патогенез аллергических реакций немедленного типа (анафилаксии). 4. Патогенез аллергических реакций замедленного типа. 5. Три стадии в развитии аллергических реакций. 6. Местные проявления аллергических реакций (феномен Артюса—Сахарова, аллергические реакции гладкомышечных органов, феномен Овери и др.). 7. Специфическая десенсибилизация (по Безредке) и неспецифическая. 8. Анафилактический шок и его особенности у животных разных видов. 9. Цитотоксины, их происхождение и значение в патологии. 10. Значение аллергической реакции для диагностики инфекционных и инвазионных болезней. 11. Основные иммунокомпетентные клетки и их кооперация в иммунном ответе. 12. И. И. Мечников и его вклад в развитие учения о фагоцитозе. 13. Клетки, способные фагоцитировать; макрофаги и микрофаги. 14. Роль фагоцитоза в неспецифической и специфической защите.

## ЗАДАЧИ

1. После повторного введения корове сыворотки жеребых кобыл (СЖК) для стимуляции половой активности развилась тяжелая картина с расстройствами двигательной функции. Что это за явление и каков его механизм?

2. У новорожденного жеребенка после приема молозива развивалась гемолитическая анемия. Как можно представить ее механизм и предупредить развитие такого явления у других жеребят?

3. Как предупредить возможную анафилактическую реакцию при повторном введении животному лечебной сыворотки?

4. У молодняка сельскохозяйственных животных в ранний постнатальный период нередко обнаруживают разной степени физиологическую незрелость — гипотрофию. Животные-гипотрофики сравнительно быстро погибают, и у них, как правило, находят жировую дистрофию вилочковой железы. Как можно объяснить пониженную резистентность организма животных-гипотрофииков в связи с функциональной недостаточностью тимуса?

5. Возникла вспышка острого инфекционного заболевания среди крупного рогатого скота. Появилась необходимость лечения заболевших и защиты клинически здоровых животных с помощью подкожного введения гипериммунной сыворотки, т. е. создания пассивного иммунитета. Для поддержания его напряженности инъекции следует повторять каждые две недели. Какой опасности будут подвергнуты животные при повторных введениях сыворотки? Как предупредить эту опасность?

6. Иммунологическое обследование группы больных бронхопневмонией телят, выращиваемых в условиях промышленного комплекса, выявило снижение показателей фагоцитоза: фагоцитарного индекса и фагоцитарной активности. Какова патогенетическая связь между подавлением фагоцитарной активности гранулоцитов и заболеваемостью телят?

7. Для диагностики туберкулеза коровам внутрикожно вводят туберкулин (препарат из возбудителя туберкулеза), а реакцию на него читают через 72 ч. Как называется такой тип аллергии, каков его механизм?

8. Во время внутрикожного введения туберкулина животное забеспокоилось, шприц выскользнул из иглы и его содержимое попало на слизистую оболочку глаза ветеринарному врачу. Через несколько часов у врача возник острый конъюнктивит с сильной отечностью век, появилось гнойное истечение из угла глаза, повысилась температура тела. Как объяснить подобную реакцию человека при попадании туберкулина на конъюнктиву глаза?

9. У свиней, переболевших инфекционной болезнью — рожей, часто наблюдаются поражения клапанов сердца аллергического происхождения. Как можно предсказать механизм развития аллергии в данном случае?

10. При загрязнении ран землей, навозом необходима профилактика столбняка, которая осуществляется введением крупным животным 50 мл гипериммунной сыворотки. Через 14 дней инъекцию повторяют. Какая патология может возникнуть при повторном введении сыворотки, как ее предотвратить?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Индукция толерантности и рантовая болезнь.
2. Роль тимуса в естественной резистентности животного организма.
3. Аутоиммунные болезни животных.
4. Причины и механизмы иммунодефицитных состояний у сельскохозяйственных животных.
5. Иммунодепрессивные болезни.

## ЛИТЕРАТУРА

- Беклемишев И. Д. Иммунопатология и иммунорегуляция. — М.: Медицина, 1986.
- Болотников И. А., Конопатов Ю. В. Физиолого-биохимические основы иммунитета сельскохозяйственных птиц. — Л.: Наука, 1987.
- Булычева Н. А., Прощалыкин А. И. Аллергия к гельминтам и насекомым и ее клиническое значение. — М., 1990.
- Естественная резистентность крупного рогатого скота и пути ее повышения: Научно-практические рекомендации Дон. госагроуниверситета. — Пос. Персияновка (Ростовская обл.), 1996.
- Коляков Я. Е. Ветеринарная иммунология. — М.: Агропромиздат, 1986.
- Комплексная система мероприятий по повышению резистентности крупного рогатого скота, свиней и птиц в промышленном животноводстве (Методические указания), ВНИИ незаразных болезней животных. Подготовили В. С. Бузлова и др. — Воронеж, 1990.
- Петров Р. В. Иммунология. — М.: Медицина, 1987.
- Ройт А. Основы иммунологии. — М.: Мир, 1991.



---

## Раздел II

### ТИПОВЫЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

#### Тема 8

### ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ И МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ

**Цель занятий.** Изучить основные расстройства периферического кровообращения, их причины, механизм развития, последствия.

**Задание 1.** Изучить артериальную и венозную гиперемия, а также ишемию.

**Опыт 1.** Нейропаралитическая артериальная гиперемия.

**Материальное оснащение:** пенопластовые препаровальные дощечки (15); микроскопы (15); кюветы (15); булавки (82); анатомические пинцеты (15); глазные ножницы (15); вата (50 г); нитки (1 катушка); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушку, предварительно адаптированную к комнатной температуре, наркотизируют, для чего ее помещают на 3—5 мин в 10%-ный раствор этилового спирта. Наркотизированную лягушку фиксируют булавками на пенопластовой дощечке брюшком вниз таким образом, чтобы плавательная перепонка между пальцами задней конечности была расправлена и закреплена над круглым отверстием. Затем проводят операцию по обнажению седалищного нерва. Для этого на задней поверхности бедра вдоль бедренной кости ножницами делают разрез кожи, тупым концом раздвигают в стороны мышцы, в глубине раны легко находят сосудисто-нервный пучок, от которого очень осторожно отпрепаровывают седалищный нерв и берут его, не завязывая, на лигатуру.

Подготовленный таким образом препарат помещают на столик стереоскопического (МБС-9) или обычного микроскопа. Наблюдают под малым увеличением нормальный кровоток в плавательной перепонке лапки. Оценив характер кровообращения, слегка подтягивают седалищный нерв из раны и перерезают. Продолжают наблюдения за кровотоком. Обращают внимание на изменения диаметра артериальных сосудов, скорость движения крови, число функционирующих капилляров. Прослеживают динамику возникающих патологических процессов до появления стойких выраженных изменений кровообращения.

**Оформление протокола опыта.** Описывают и зарисовывают картину изменений тока крови до и после перерез-

ки седалищного нерва. Наблюдения анализируют, делают выводы о роли нервной системы в развитии артериальной гиперемии.

### *Опыт 2. Нейротоническая артериальная гиперемия.*

**Материальное оснащение:** микроскопы (стереоскопические) (15); пенопластовые препаровальные дощечки (15); кюветы (15); булавки (105); анатомические пинцеты (15); нитки (1 катушка); вата (20 г); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); раствор Рингера для холоднокровных (50 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушку, наркотизированную этанолом, фиксируют таким образом, чтобы край нижней челюсти был расположен у отверстия препаровальной дощечки. Осторожно извлекают язык и крепят его, косо прикалывая булавками к подлежащей пластинке. Убедившись в том, что на языке отсутствуют кровоизлияния и он равномерно и легко растянут, у его корня находят язычный нерв. Этот нерв проходит в составе нервно-сосудистого пучка, который можно легко обнаружить при оттягивании слизистой оболочки кнаружи. Под нерв подводят нитку с помощью тонкой круглой хирургической иглы, которую осторожно вкалывают между нервом и кровеносными сосудами.

После описанной подготовки препарат языка лягушки помещают на предметный столик стереоскопического (МБС-9) или обычного микроскопа. Просматривают в проходящем свете исходное состояние микроциркуляторного русла выбранного участка языка. Отмечают диаметр артериальных сосудов и капилляров, скорость кровотока. Помощник экспериментатора (второй студент) механически раздражает язычный нерв легким натяжением и перемещением (взад-вперед) лигатуры.

Уже в момент раздражения и в последующие несколько минут возникают усиленный кровоток, расширение артерий, увеличение числа функционирующих капилляров.

**Оформление протокола опыта.** В тетради кратко записывают методику проведения опыта, зарисовывают микроциркуляторное русло языка лягушки в исходном состоянии и после раздражения язычного нерва. Зафиксированные изменения анализируют. Делают выводы.

### *Опыт 3. Нейропаралитическая артериальная гиперемия уха кролика.*

**Материальное оснащение:** станки для фиксации кроликов (2); клетки для кроликов (2); хирургические наборы (2); электростимуляторы (2); 5%-ный раствор йода (15 мл); подопытные животные: кролики (2).

**Постановка опыта.** Эксперимент проводят на белом кролике с хорошо выраженной сосудистой кровеносной сетью на ушах. Животное фиксируют на столике, на шее подготавливают поле операции. Делают небольшой (2—2,5 см) разрез по белой линии, отпрепаровывают нервно-сосудистый пучок, выделяют более

тонкий, чем блуждающий, серовато-розовый (не путать с депрессорным нервом!) симпатический ствол. Симпатический нерв перерезают и берут на лигатуру его периферический конец. Перерезанный нерв опускают в рану, укладывают между мышцами. С помощью зажима Диффенбаха закрывают кожный разрез с таким расчетом, чтобы снаружи остались лишь концы лигатуры. Кролика отвязывают и помещают в фиксационную клетку. Поднимают уши и рассматривают их в проходящем свете. Выявляют, что ухо той стороны, где была осуществлена перерезка симпатического нерва, ярко-красного цвета. Окраска обусловлена расширением артериальных сосудов, особенно центральной артерии, капиллярной сети и вен. Измеряют температуру кожи обеих ушей и убеждаются, что на денервированной стороне она существенно выше.

После наблюдения с кожной раны снимают зажим, осторожно извлекают из раны, подтягивая лигатуру, перерезанный конец симпатического нерва и раздражают его индукционным током достаточной силы. Сосуды сужаются, ухо бледнеет. При сильном раздражении наблюдают полный спазм сосудов — «меловое ухо». Рассматривая центральные артерии нормального и денервированного уха, отмечают, что в нормальном ухе происходит периодическое сокращение стенок сосудов, а в денервированном такие сокращения отсутствуют. По окончании опыта кожную рану зашивают, кожу смазывают йодом.

Проведенный опыт убеждает в том, что сосудосуживающие нервные волокна уха кролика проходят в составе шейного симпатического ствола, при его перерезке развивается нейропаралитическая артериальная гиперемия; нервные сосудосуживающие волокна находятся в состоянии постоянного тонуса, так как при их перерезке сосуды резко расширяются.

**Оформление протокола опыта.** Описывают операцию по перерезке симпатического нерва. Зарисовывают сосудистую реакцию денервированного уха. Анализируют механизм возникающей артериальной гиперемии, делают вывод о влиянии симпатического нерва на стенки кровеносных сосудов.

**Опыт 4.** Миопаралитическая артериальная гиперемия уха кролика.

**Материальное оснащение:** клетки для кроликов (2); рефлекторы с лампой (2); электротермометры (2); ксилол (15 мл); подопытные животные: кролики (2).

**Постановка опыта.** Кролика белой масти помещают в фиксационную клетку. Визуально определяют окраску и состояние кровеносной системы уха в проходящем свете, для чего используют источник света (рефлектор), располагаемый вблизи от объекта исследования. Небольшим ватным тампоном, обильно смоченным ксилолом, протирают кожу дистальной части наружной поверхности уха. Продолжая наблюдения, обнаруживают бы-

строе расширение артерий (по центру уха) и особенно капиллярной сети, о чем судят по интенсивной ярко-красной окраске. Ухо увеличивается в объеме. Температура кожи гиперемизированного уха на несколько градусов выше, чем температура кожи второго, контрольного уха. Температурную разницу выявляют с помощью электротермометра или ощупыванием.

Если проследить динамику патологического процесса, то можно выявить пёреход артериальной миопаралитической гиперемии в венозную с характерными для нее признаками.

Ксилोल, непосредственно действуя на нервно-мышечный аппарат стенки артерий, снижает тонус гладких мышц, вызывает их паралич. Расслабленная стенка сосуда под воздействием гидродинамического давления расширяется, нарастает приток артериальной крови, увеличивается объем гиперемизированного уха, повышается его температура. Вместе с тем возрастает проницаемость сосудистых стенок артериол и эндотелия капилляров, в тканях появляется обильный транссудат. Артериальная гиперемия переходит в венозную.

**Оформление протокола опыта.** Записывают условия проведения эксперимента, внешние признаки миопаралитической артериальной гиперемии в динамике ее развития. Анализируют патогенез наблюдаемого патологического процесса. Объясняют причины перехода артериальной гиперемии в венозную. Делают выводы.

**Опыт 5.** Миопаралитическая артериальная гиперемия языка лягушки.

**Материальное оснащение:** пенопластовые препаровальные дощечки (15); микроскопы (15); булавки (105); кюветы (15); смесь скипидара с вазелиновым маслом (1 : 1) (6 мл); раствор Рингера для холоднокровных (160 мл); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** За сутки перед занятием лягушку выдерживают при комнатной температуре. Ее обездвигивают алкогольным наркозом, для чего опускают на 5—8 мин в 10%-ный раствор этилового спирта. Наркотизированную лягушку кладут на препаровальную дощечку брюшком вниз, раскрывают рот, нижнюю челюсть по бокам прикалывают двумя булавками к краю круглого отверстия.

Затем нитками или булавками фиксируют конечности. Осторожно приподняв верхнюю челюсть, извлекают язык, расправляют его, не допуская разрывов, над отверстием и закрепляют в таком положении косо воткнутыми булавками. Дощечку с лягушкой помещают на предметный столик стереоскопического (МБС-9) или обычного микроскопа таким образом, чтобы свет от зеркала или осветителя проходил через отверстие в дощечке. В этом случае легко обнаружить артериальные сосуды по расходящемуся току крови. Определив место с хорошо просматриваемой артери-

альной сетью, изучают и зарисовывают картину исходного кровотока, обращая внимание на скорость движения тока крови, диаметр сосудов, количество функционирующих капилляров. На слизистую оболочку языка наносят две капли раствора Рингера и продолжают наблюдения. Спустя 5 мин на участок языка, находящийся в поле зрения, наносят две капли смеси скипидара с вазелиновым маслом (1 : 1). Рассматривают и зарисовывают микроскопическую картину развивающейся артериальной гиперемии.

**Оформление протокола опыта.** Отмечают характер кровообращения в исходном состоянии, после воздействия раствора Рингера и воздействия химического раздражителя. Анализируют наблюдаемые явления. Делают выводы.

**Опыт 6.** Венозная гиперемия легкого лягушки.

**Материальное оснащение:** стеклянные пластинки (15); ножницы глазные (15); препаровальные иглы (15); сосудистые стеклянные канюли с трубкой и зажимом (15); покровные стекла (15); микроскопы (15); пинцеты анатомические (15); зажимы Диффенбаха (15); стеклянные стаканчики на 100 мл (15); кюветы (15); раствор Рингера для холоднокровных (200 мл); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушку-самца, наркотизированную этанолом, фиксируют на стеклянной пластинке брюшком вниз, привязывая лапки резиновыми полосками. Открывают рот, пинцетом вперед оттягивают хрящевую часть языка, обнаруживают голосовую щель и вводят в нее стеклянную канюлю, соединенную с резиновой трубкой, имеющей на свободном конце стеклянный наконечник. Затем осторожно продвигают канюлю через гортань в начало трахеи, сильно не нажимая, чтобы не проткнуть легкое. Канюля должна быть достаточной толщины и плотно держаться в трахее. Если канюля слишком узка и выскальзывает из гортани, на ее кончик нужно надеть короткий отрезок эластичной трубки.

Делают операцию по выведению легкого. С этой целью сбоку, под передней конечностью, пинцетом оттягивают кожу и тупоконечными ножницами аккуратно, стараясь не поранить легкое, вскрывают грудобрюшную полость. Делают небольшой разрез (15—20 мм), чтобы можно было вывести легкое наружу. Затем через трубку слегка раздувают легкое и прикрывают выход воздуха посредством зажима, накладываемого на резиновую трубку. Раздутое легкое выводят через операционный разрез легким нажимом на боковые стенки туловища. На легкое накладывают покровное стекло и помещают под объектив микроскопа. Легкое периодически увлажняют раствором Рингера. Рассматривают приготовленный препарат под малым и средним увеличением микроскопа. Отчетливо выявляют легочные альвеолы в виде отдельных ячеек, окружающую их густую сеть крупных и мелких сосудов, по которым движется кровь. Иногда, если легкое слабо наполнено воздухом, отмечают разницу в скорости кровотока при вдохе и выдохе.

Получив представление о состоянии исходного кровообращения, у корня легкого находят легочную вену, на которую накладывают зажим Диффенбаха, захватывая окружающую ее легочную ткань. Таким образом вызывают венозный застой в легком.

Под микроскопом наблюдают за динамикой развивающихся явлений, характерных для венозной гиперемии: замедлением кровотока, увеличением диаметра венозных сосудов, расширением капиллярной сети, маятникообразным движением крови, остановкой кровотока. После возникновения стаза снимают зажим с легочной вены и наблюдают за динамикой восстановления кровообращения в легком.

**Оформление протокола опыта.** Записывают ход операции по выведению легкого наружу. Зарисовывают микроскопическую картину венозной гиперемии легкого. Отмечают последовательность изменений кровотока, анализируют причину их возникновения. Объясняют возможность обратимости нарушений кровоснабжения тканей, возникающих при венозном застое.

**Опыт 7.** Венозная гиперемия языка лягушки.

**Материальное оснащение:** пенопластовые препаровальные дощечки (15); микроскопы (15); булавки (105); нитки (1 катушка); кюветы (15); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушку, наркотизированную алкоголем, кладут на препаровальную дощечку брюшком вниз. Открывают рот, фиксируют нижнюю челюсть у края круглого отверстия, а затем вколами булавок закрепляют конечности. Приподняв верхнюю челюсть, осторожно извлекают язык, расправляют его над отверстием и фиксируют в заданном положении косо вколотыми булавками.

Одной булавкой поднимают верхнюю челюсть. Визуально по обе стороны языка отыскивают вены, идущие в составе сосудисто-нервных пучков. Вены лежат латеральнее артерий (рис. 20), отличаются от них темно-красным цветом и большим диаметром. Пинцетом захватывают и оттягивают у корня край языка, вкалывают иглу между артерией и веной, выше отходящих от нее анастомозов, и подводят лигатуры поочередно под оба венозных ствола. Подготовив препарат, помещают его на предмет-

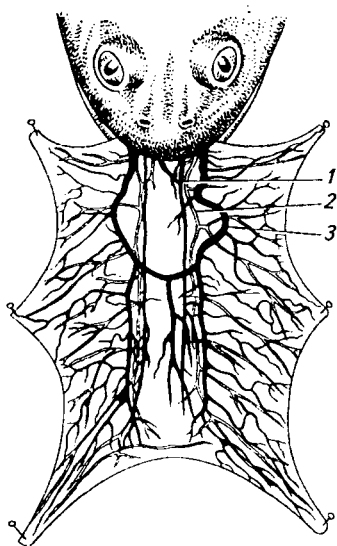


Рис. 20. Сосуды и нервы языка лягушки:

1 — нерв; 2 — артерия; 3 — вена

ный столик стереоскопического или обычного микроскопа. Выбирают участок языка с наиболее видимой картиной кровотока, находят венозные сосуды, где кровь из мелких протоков направляется в более крупные. Изучают в избранном поле зрения микроскопическую картину кровотока. С помощью ранее подведенной лигатуры аккуратно перевязывают один из венозных стволов языка. Видимых расстройств кровообращения не наступает.

Завязывают лигатуру, подведенную и ко второй вене (но так, чтобы ее можно было потом развязать!). Обнаруживают, что по артериям кровь продолжает поступать в капилляры и вены, они переполняются, расширяются, кровоток вначале резко замедляется, а потом вовсе прекращается. Наблюдают маятникообразные движения крови: во время систолы желудочка кровь по артериям продвигается вперед, во время диастолы — назад. Число сосудов увеличено, они расширены, изогнуты. Капилляры и вены переполнены форменными элементами, кровоток прекращается. При визуальном осмотре языка отмечают его отечность, синюшную окраску.

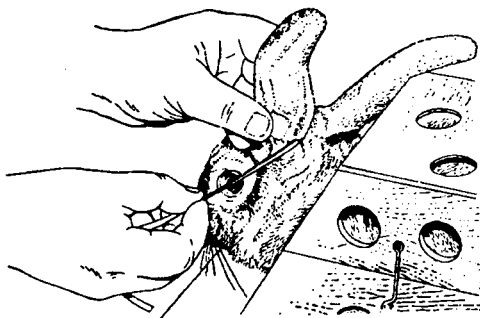
Проследив все фазы развития венозной гиперемии, устраняют ее причину — развязывают обе лигатуры, наложенные на вены у корня языка. Наблюдают обратную последовательность в восстановлении кровотока. Снова появляется маятникообразное движение крови в сосудах, причем колебания становятся все больше, по отдельным капиллярам кровь начинает двигаться непрерывно, этот процесс распространяется на все большее число сосудов, и вскоре кровоток в артериях, капиллярах и венах полностью восстанавливается. Исчезает цианотичность языка.

**Оформление протокола опыта.** Отмечают характер кровообращения в тканях языка в исходном состоянии, после перевязки одной вены, второй вены, динамику восстановления кровотока после устранения причины, вызвавшей венозную гиперемию. Анализируют результаты эксперимента. Делают выводы.

#### *Опыт 8.* Венозная гиперемия уха кролика.

**Материальное оснащение:** клетки для кроликов (2); пробки с продольным вырезом (2); полоски резинового бинта (2); рефлекторы (2); подопытные животные: кролики (2).

**Постановка опыта.** Крупного кролика белой масти помещают в фиксационную клетку. В ушную раковину вставляют пробку с продольным вырезом, располагая ее так, чтобы вырез приходился против центральной ушной артерии (рис. 21). Пробку в ушной раковине сначала придерживают рукой, а затем ткани уха по окружности пробки перетягивают тонкой полоской резинового бинта. При наложении бинта не нарушается приток крови по ушной артерии, но затрудняется отток венозной крови от тканей уха кролика. Нарушение кровообращения характеризуется возникно-



**Рис. 21. Моделирование венозной гиперемии  
сосудов уха кролика**

вением венозной гиперемии со свойственными ей признаками. Так, уже через несколько минут, рассматривая ухо в проходящем свете, обнаруживают темно-вишневое окрашивание (противоположное, интактное, ухо имеет бледно-розовую окраску). Темно-вишневое окрашивание становится все более интенсивным, приобретая синюшный оттенок. Развивается цианоз. Крупные, средние, мелкие вены, а также сеть капилляров расширены. Ушная раковина отечна, особенно в дистальной части. При измерении температуры кожи обеих ушей обнаруживают, что температура кожи гиперемизированного уха значительно ниже, чем интактного.

После наблюдений за патологическими явлениями, характерными для венозной гиперемии, снимают резиновый бинт, из раковины уха удаляют пробку. В проходящем свете наблюдают за восстановлением нарушенного кровотока.

**Оформление протокола опыта.** Записывают динамику появления внешних признаков венозной гиперемии уха у кролика после механического сдавливания вен. Анализируют механизм последовательно возникающих патологических явлений. Разбирают динамику восстановления кровотока после устранения причины. Делают выводы.

#### **Опыт 9. Рефлекторная ишемия сосудов уха кролика.**

**Материальное оснащение:** клетки для кроликов (2); рефлекторы (2); инъекционные иглы (2); звуковые генераторы (2); кровоостанавливающие пинцеты (2); подопытные животные: кролики (2).

**Постановка опыта.** Крупного белого кролика с большими ушными раковинами помещают в специальную решетчатую клетку. Источник света (рефлектор с яркой электрической лампой или солнечный свет) должен быть расположен перед ушами, чтобы хорошо просвечивались и просматривались кровеносные сосуды. Придерживая кончики ушей, наблюдают за состоянием центральной артерии, ее ветвей, крупных и мелких вен. После того как



кролик адаптируется к условиям среды (в помещении должно быть достаточно тепло), сосуды несколько расширяются, причем можно проследить пульсацию ушной артерии.

Вначале изучают реакцию сосудов на раздражение кожи уха, для чего тупым концом булавки несколько раз проводят по стенке центральной артерии на протяжении 2—3 мм. Раздражение кожи вызывает резкое местное сужение артерии. После того как сосуд вернется к исходному состоянию, проводят булавкой вдоль всей артерии и в зависимости от силы раздражителя отмечают или расширение артерии (при слабом раздражении), или ее сужение (при сильном раздражении).

Когда после очередного раздражения сосуды приходят в норму, изучают рефлекторное сужение их просвета, которое можно вызвать воздействием на болевые или слуховые рецепторы.

Слуховые рецепторы кролика раздражают воздействием звукового генератора (180—200 дБ) в течение 5—10 с, болевые — сдавливанием кончика хвоста кровоостанавливающим пинцетом. В том и другом случаях регистрируют сильное, нередко длительное сужение просвета сосудов обеих ушей — ишемию, которая спустя некоторое время после прекращения воздействия на рецепторный аппарат сменяется артериальной гиперемией. Наблюдают надолго запоминающуюся, впечатляющую «игру сосудов» вазомоторного и миопаралитического происхождения.

**Оформление протокола опыта.** Записывают последовательность воздействий на экстеро- и интерорецепторы. Дают характеристику рефлекторным изменениям кровообращения в сосудах уха кролика и объясняют их механизмы. Делают выводы.

**Опыт 10.** Ангиоспастическая ишемия сосудов брыжейки лягушки.

**Материальное оснащение:** препаровальные дощечки (15); микроскопы (15); булавки (105); ножницы глазные (15); пинцеты (15); пипетки (15); кюветы (15); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); 0,01%-ный раствор адреналина (5 мл); раствор Рингера для холоднокровных (50 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Наркотизированную лягушку помещают на препаровальную дощечку брюшком вниз с таким расчетом, чтобы край живота приходился на одном уровне с отверстием. Лягушку фиксируют на дощечке, для чего булавками ее прикалывают за лапки. Глазными ножницами делают боковой разрез брюшной стенки. Осторожно извлекают тонкий кишечник, брыжейку веерообразно расправляют над отверстием и закрепляют косо вколотыми булавками в стенку кишки на дощечку. Подготовленный препарат кладут на предметный столик микроскопа (лучше стереоскопического). Изучают микроскопическую картину кровотока. Обращают внимание на количество сосудов, по ко-

торым двигаются различные элементы крови, диаметр капилляров, мелких и крупных сосудов, скорость движения крови в них. Во время наблюдения на брыжейку наносят 3—4 капли адреналина в разведении 1 : 10 000.

Отмечают уменьшение числа функционирующих сосудов, резкое сужение просвета артерий, в некоторых из которых кровоток становится едва заметным.

**Оформление протокола опыта.** Зарисовывают схему микроскопической картины артериальной сосудистой сети брыжейки лягушки в исходном состоянии и после воздействия адреналина. Объясняют механизм возникновения ишемии. Делают выводы.

**Опыт 11.** Обтурационная ишемия сосудов языка лягушки.

**Материальное оснащение:** препаровальные дощечки (15); кюветы (15); булавки (105); микроскопы (15); круглые хирургические иглы (15); нитки (1 катушка); пинцеты анатомические (15); пипетки (15); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); раствор Рингера для холоднокровных (70 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушку, наркотизированную алкоголем, помещают на препаровальную дощечку брюшком вниз. У края круглого отверстия булавками фиксируют нижнюю челюсть и прикладывают к дощечке конечности лягушки. Осторожно извлекают язык, расправляют и закрепляют его над отверстием. У корня языка отыскивают артерии, которые проходят вместе с нервом медиальнее язычной вены. Оттягивают пинцетом край языка и сначала под одну, а затем под другую артерию подводят лигатуры с помощью круглой иглы, избегая захвата нервных стволов. Препарат помещают на предметный столик микроскопа, лучше стереоскопического, над осветительным прибором. Изучают кровообращение в артериальной сосудистой сети. Перевязывают сначала одну язычную артерию, но так, чтобы в последующем можно было легко развязать узел. Следят за состоянием кровотока, но особых расстройств кровоснабжения не обнаруживают. Затем таким же образом перевязывают и вторичную язычную артерию.

Выявляют сразу же возникающие изменения кровотока. Мелкие артерии постепенно запустевают, капилляры становятся малозаметны, кровообращение скоро совсем прекращается. Обращают внимание на кровоток, сохраняющийся в отдельных мелких сосудах за счет коллатералей. При визуальном осмотре обнаруживают резкое побледнение тканей языка.

Констатируя развившуюся ишемию, поочередно развязывают узлы нитей, которыми были перевязаны артерии. Следят за динамикой восстановления кровоснабжения тканей языка.

**Оформление протокола опыта.** Записывают динамику изменений кровотока, характерную для ишемии. Описывают

вают последовательность восстановления кровообращения после устранения причины патологического процесса.

*Опыт 12.* Истинный стаз в сосудах брыжейки лягушки.

**Материальное оснащение:** препаровальные дощечки (15); микроскопы (15); ножницы глазные (15); булавки (105); кюветы (15); пинцеты анатомические (15); пипетки глазные (15); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); 2%-ный раствор натрия хлорида (30 мл); раствор Рингера для холоднокровных (100 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Наркотизированную лягушку кладут на препаровальную дощечку и фиксируют конечности. Делают боковой разрез кожи и мышц брюшной стенки. Извлекают тонкий отдел кишечника, аккуратно расправляют брыжейку над отверстием в дощечке, фиксируя стенку кишки косо вколотыми булавками. Препарат размещают на столике микроскопа (лучше стереоскопического) и убеждаются в том, что кровообращение в брыжейке не нарушено. Подбирают участок с хорошо различимой капиллярной сетью, наносят на него 2—3 капли гипертонического (2%-ного) раствора натрия хлорида.

Наблюдают за последующим изменением характера кровотока и расположением форменных элементов в капиллярах. Передвижение форменных элементов крови в сосудах, особенно в капиллярах, замедляется. Эритроциты склеиваются, образуют конгломераты, затрудняющие кровоток. Повышается периферическое сопротивление. Возникают признаки венозного застоя. Увеличивается проницаемость стенки капилляров. Развивается стаз, для которого наиболее характерна агрегация форменных элементов крови.

После этого серозную оболочку брыжейки многократно отмывают раствором Рингера. Проводя наблюдения, обнаруживают медленный распад конгломератов и восстановление кровотока в капиллярной сети и более крупных кровеносных сосудах брыжейки.

**Оформление протокола опыта.** Зарисовывают микроскопическую картину истинного капиллярного стаза. Отмечают последовательность восстановления кровотока после устранения химического фактора, вызвавшего стаз. Делают выводы о причинах и последствиях стаза.

*Опыт 13.* Реакция сосудов изолированного уха на химические раздражители.

**Материальное оснащение:** шприцы на 20 мл (2); сосудистые полиэтиленовые канюли (2); установки для перфузии сосудов уха (2); кислородные подушки (2); хирургические иглы с нитью (2); иглодержатель (1); холодильник (1); раствор Рингера для теплокровных (3 л).

**Постановка опыта.** У убитого кролика или свиньи (на мясокомбинате) изолируют ухо по способу Кравкова—Писемского. Находят и обнажают центральную артерию. В нее вводят по-

лиэтиленовую канюлю соответствующего диаметра. Прошив окружающие ткани, фиксируют канюлю в сосуде с помощью лигатуры. Набирают в шприц раствор Рингера, присоединяют к канюле и вымывают оставшуюся кровь. После этого, при необходимости, ухо охлаждают в холодильнике. Его можно использовать для опыта в последующие 24 ч. Ухо имеет максимальную чувствительность при-близительно через сутки после отсечения и хранения на холоде.

Во время проведения эксперимента канюлю, введенную в центральную артерию, соединяют с перфузионным аппаратом. Аэрируют перфузирующий раствор Рингера и промывают им сосуды уха. Устанавливают постоянный ток жидкости с помощью винтового зажима.

В последующем к раствору, притекающему к уху, поочередно добавляют различные вещества с учетом прекращения действия на сосуды предыдущего раздражителя. Эффект определяют по количеству перфузата, вытекающего за единицу времени. Испытывают следующие вещества: адреналин — 0,05 мкг, ацетилхолин — 10 мкг, гистамин — 0,2 мг, серотонин — 0,03 мкг, свежеполученную желчь — 0,3 мл, питуитрин — 5 ЕД, норадреналин — 0,15 мкг.

**Оформление протокола опыта.** Записывают порядок подготовки препарата уха к эксперименту. Отмечают положительные и негативные стороны изучения действия различных препаратов на сосуды изолированного уха. Регистрируют данные о влиянии испытуемых веществ на количество вытекающего перфузата. Делают выводы о механизме расширения и сужения сосудов под влиянием химических раздражителей.

## **Задание 2. Изучить эмболии.**

**Опыт 1.** Микроскопическая картина развития жировой эмболии в сосудах различных органов лягушки.

**Материальное оснащение:** препаровальные дощечки (15); кюветы (15); микроскопы (15); препаровальные иглы (15); глазные ножницы (15); пинцеты анатомические (15); булавки (105); шелковые нитки (1 моток); стеклянные канюли (4); покровные стекла (4); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); вазелиновое масло, окрашенное суданом (70 мл); раствор Рингера для холоднокровных (130 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Одному коллективу студентов-экспериментаторов (2—4 человека) поручают подготовить препарат языка лягушки, другому — легкого, третьему коллективу студентов — препарат лапки лягушки.

**В первом случае** лягушку, наркотизированную этанолом, помещают на препаровальную дощечку брюшком вверх. Верхнюю челюсть фиксируют у края отверстия в дощечке двумя вколотыми булавками. Булавками прикалывают также конечности. Срезают лоскут кожи над грудиной, приподнимают ее препаровальной иглой, ножницами удаляют мышцы и часть грудной кости, расположенной над сердцем. Через образовавшееся отверстие получают доступ к перикарду, рассекают его и обнажают сердце. После этого лягуш-

ке приоткрывают рот, осторожно извлекают язык, расправляют его над отверстием, прикрепляют по краям булавками, не прижимая ткань языка к поверхности дощечки, сохранив тем самым кровоток.

Поместив препарат на предметный столик стереоскопического или обычного микроскопа, наблюдают под малым увеличением картину кровотока. По характеру движения крови находят артерии и вены. Набирают в шприц заранее приготовленную эмульсию вазелинового масла в физиологическом растворе, пальцем или пинцетом фиксируют сердце и в полость желудочка, проколов его сверху, вводят 0,2 мл вазелинового масла, окрашенного суданом в красный цвет. Сразу же начинают следить за появлением первых жировых эмболов в кровеносных сосудах. Наблюдают за конфигурацией жировых капелек. Сначала их мало, они круглые, затем, по мере накопления, жир принимает контуры капилляра, мелких и более крупных артерий. Нарушается кровоток. Характер этих нарушений зависит от величины, вида, количества частично или полностью закупоренных сосудов.

В отдельных участках заметны перераспределение кровотока, появление коллатерального кровообращения.

*Во втором случае* наркотизированную лягушку помещают на стеклянной пластинке брюшком вверх. Фиксируют в заданном положении, привязывая лапки толстыми нитками. В трахею через голосовую щель вводят стеклянную канюлю с резинкой и зажимом на кончике. В последовательности, описанной выше, обнажают сердце. Боковым разрезом вскрывают грудобрюшную стенку, слегка раздвигают легкое, очень осторожно выводят его наружу через операционный разрез. Препарат помещают под объектив микроскопа. Под малым увеличением рассматривают микроскопическую картину легочного кровообращения подопытной лягушки. В полость желудочка сердца вводят эмульсию окрашенного вазелинового масла.

Исучают динамику развития жировой эмболии сосудов малого круга кровообращения. Обращают внимание на множественность анастомозов, по которым осуществляется кровоснабжение ткани легкого при закупорке даже сравнительно крупных магистралей.

*В третьем случае* наркотизированную лягушку фиксируют на препаровальной дощечке брюшком вверх с таким расчетом, чтобы можно было проследить за кровотоком в плавательной перепонке одной из задних лапок. С этой целью перепонку слегка растягивают и фиксируют косо вколотыми булавками над соответствующим отверстием. В том же порядке, как было описано выше, обнажают сердце и вводят в полость его желудочка жировую эмульсию. В токе артериальной крови сразу же обнаруживают круглые жировые частицы, с разной скоростью продвигающиеся по сосудам. По мере увеличения количества шариков они начинают закупоривать капилляры, артериолы, а затем и более крупные артериальные сосуды, принимая их формы.

Готовя одновременно три препарата, студенты группы, переходя во время занятий от одного препарата к другому, знакомятся с развитием эмболии в различных органах, отличающихся морфологическими особенностями кровоснабжения.

**Оформление протокола опыта.** Записывают использованную методику. Зарисовывают схему расположения эмболов в сосудах языка, легкого, плавательной перепонки. Анализируют возможные расстройства кровоснабжения в различных тканях. Делают выводы о последствиях эмболии.

**Опыт 2.** Жировая эмболия сосудов малого круга кровообращения у кролика.

**Материальное оснащение:** операционные столы для кроликов (2); пневмографы (2); отметчики времени (2); капсулы Маррея (2); электрокардиографы (2); электрокимографы (2); шприцы на 2 мл с иглой (2); вазелиновое масло, окрашенное суданом (4 мл); подопытные животные: кролики (2).

**Постановка опыта.** Кролика массой более 2 кг фиксируют на операционном столе животом вверх. На грудной клетке размещают пневмограф, соединенный трубкой с капсулой Маррея для регистрации дыхания на ленте кимографа. Под кожу конечностей вкалывают игольчатые электроды от электрокардиографа по схеме, изображенной на панели прибора.

Регистрируют дыхание и электрокардиограмму. На фоне записи дыхания в ушную вену вводят 1—1,5 мл вазелинового масла, подогретого до температуры тела и окрашенного суданом в красный цвет. Обращают внимание на быстро развивающуюся одышку. Электрокардиограммы снимают 5—7 раз через каждые 2 мин. Визуально определяют состояние сердечной деятельности, а затем детально обрабатывают электрокардиограммы.

В результате эмболии сосудов малого круга и перехода жировых эмболов в большой круг кровообращения (рис. 22) животное

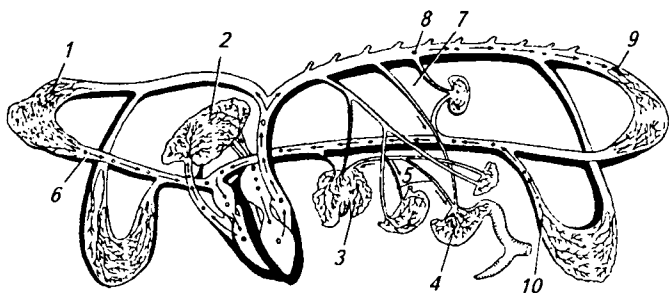


Рис. 22. Эмболия сосудов малого и большого кругов кровообращения:

1 — эмболия сосудов мозга; 2 — эмболия легочных сосудов; 3 — эмболия воротной вены; 4 — эмболия артерий кишечника; 5 — эмболия паразитарного происхождения (личинки паразитов); 6 — воздушная (инъекционная) эмболия; 7 — тромбоз эмболия; 8 — эмболия клетками злокачественной опухоли; 9 — метастаз опухоли; 10 — жировая эмболия (травмы трубчатых костей)

может погибнуть. В этом случае проводят патологоанатомическое вскрытие, обращая особое внимание на изменения в легких.

**Оформление протокола опыта.** Записывают ход эксперимента. Вклеивают фрагменты электрокардиограмм, обрабатывают их, данные вносят в тетрадь. Дают характеристику последствия жировой эмболии малого круга кровообращения. При необходимости отмечают результаты патологоанатомического вскрытия кролика.

**Задание 3.** Изучить некоторые механизмы тромбообразования.

**Опыт 1.** Моделирование образования красного, коагуляционного тромба в сосудах языка лягушки.

**Материальное оснащение:** препаровальные дощечки (15); микроскопы (15); булавки (105); натрия хлорид (7 г); препаровальные иглы (15); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушку, наркотизированную алкоголем, помещают на препаровальную дощечку. Фиксируют голову и конечности, над отверстием расправляют язык и укрепляют его булавками. Зафиксированную лягушку помещают на предметный столик обычного или стереоскопического микроскопа. В поле зрения находят вену с медленным током крови. Рядом с помощью препаровальной иглы размещают маленький кристаллик натрия хлорида. Изучают микроскопическую картину образования красного тромба. Вскоре после действия химического повреждающего фактора у внутренней стенки всей вены начинают выпадать и склеиваться форменные элементы крови. Постепенно на большом участке образуется белый веретенообразный тромб, состоящий из лейкоцитов и тромбоцитов. Затем появляются нити фибрина, которые задерживают эритроциты по всей длине тромбической массы. У края тромба по направлению тока крови хорошо видны вихревые потоки плазмы и различных форменных элементов. Здесь образуется хвостовая часть тромба, от которой могут отрываться и уноситься током крови частицы тромба, которые становятся эмболами.

**Оформление протокола опыта.** Зарисовывают микроскопическую картину тромбоза сосуда. Объясняют механизм образования красного коагуляционного тромба. Делают выводы.

**Опыт 2.** Моделирование образования белого, агглютинационного тромба.

**Материальное оснащение:** препаровальные дощечки (15); микроскопы (15); булавки (105); препаровальные иглы (15); пипетки (15); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); 0,65%-ный раствор натрия хлорида (260 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушку, наркотизированную алкоголем, помещают на препаровальную дощечку брюшком вниз

слева от проделанного в ней круглого отверстия. Лягушку фиксируют таким образом, чтобы стенка живота находилась у края отверстия. Оттянув пинцетом ткани, разрезают ножницами кожу живота, мышцы, брюшину, осторожно через разрез извлекают кишечник. Брыжейку кишки веерообразно расправляют над отверстием и закрепляют, косо вкалывая булавки через толщу стенки кишки в дощечку. Брыжейка не должна быть перекручена; растягивать ее следует умеренно, не травмируя; она должна лежать параллельно поверхности. Брыжейку и стенку кишки увлажняют изотоническим раствором натрия хлорида. Препарат помещают на предметный столик микроскопа с таким расчетом, чтобы свет проходил через отверстие в препаровальной дощечке. Под малым (объектив 40) увеличением находят небольшую вену и под визуальным контролем сдавливают ее затупленной препаровальной иглой в течение 15 с. Следят за кровотоком в сосуде. В месте сдавливания обнаруживают скопление белой тромбической массы, за которой по ходу крови хорошо просматривается вихревой поток. Тромб формируется двухфазно: первая фаза адгезии, агрегации и агглютинации тромбоцитов, вторая — коагуляции. Тромбическая масса рыхлая, при сильном кровотоке кусочки тромба могут отрываться от места прикрепления.

**Формирование протокола опыта.** Зарисовывают микроскопическую картину образования агглютинационного тромба. Анализируют и объясняют механизм образования агглютинационного тромба.

**Опыт 3.** Моделирование тромбообразования с помощью механической травмы сосуда брыжейки мыши.

**Материальное оснащение:** препаровальные дощечки (4); стереоскопические микроскопы (МБС-9) (4); булавки (28); препаровальные иглы (4); вата (12 г); раствор Рингера для теплокровных (20 мл); раствор гепарина (5000 ЕД в 1 мл) (0,8 мл); подопытные животные: мыши (4).

**Постановка опыта.** Белой мыши подкожно вводят 1%-ный раствор гексенала из расчета 100 мг на 1 кг массы тела. Мышь фиксируют брюшком вверх на препаровальной дощечке и через боковой разрез брюшной стенки выводят петли тонкого кишечника. Над отверстием в дощечке расправляют и фиксируют брыжейку. Препарат помещают на предметный столик стереоскопического микроскопа и наблюдают за нормальным кровотоком. Ближе к стенке кишки находят небольшую артерию, острой иглой прокалывают ее стенку, изучают макро- и микроскопическую картину возникающего кровотечения. Изливающуюся кровь периодически убирают ватным тампоном, брыжейку увлажняют раствором Рингера.

Постепенно в месте травмы стенки сосуда образуется хорошо различимый коагуляционный тромб, закрывающий раневое отверстие. Кровотечение прекращается. После этого на участок повреждения наносят одну каплю раствора гепарина (5000 ЕД в



1 мл). Наблюдают за состоянием тромба. Обнаруживают его медленное расплавление и вновь развивающийся выход крови, а также ее форменных элементов за пределы кровеносного сосуда.

**Оформление протокола опыта.** Записывают условия проведения эксперимента. Зарисовывают микроскопическую картину образования тромба. Объясняют механизм возникновения коагуляционного тромба и характер действия гепарина на свежесформированный тромб.

**Задание 4.** Изучить нарушения проницаемости сосудов обмена как одного из проявлений расстройств микроциркуляции.

**Опыт.** Проницаемость сосудов обмена (капилляров, венул) при артериальной гиперемии кожи у кролика.

**Материальное оснащение:** шприцы на 2 мл с иглой (2); изогнутые ножницы (2); наборы для бритья (2); столики для фиксации кроликов (2); горчичники (2); полотенца (2); чашки с теплой водой (2); 1%-ный раствор трипанового синего (5 мл); подопытные животные: кролики-альбиносы (2).

**Постановка опыта.** Кролика белой масти фиксируют на операционном станке спиной вниз. Выстригают и выбривают волосы на животе. Отрезают кусок горчичника (4 × 5 см), смачивают в теплой воде, накладывают на выстриженный участок кожи, плотно прижимают и кладут сверху полотенце. Через 15 мин с момента аппликации раздражителя горчичник снимают. На месте его действия обнаруживают артериальную гиперемию и некоторое повышение чувствительности.

В ушную вену вводят 2 мл 1%-ного раствора трипанового синего. Следят за окрашиванием кожи в месте наложения горчичника и на окружающих интактных участках. Наблюдение продолжают до максимальной интенсивности прокрашивания тканей.

**Оформление протокола опыта.** Записывают последовательность эксперимента. Объясняют механизм артериальной гиперемии, возникающей при наложении горчичников, и усиленного выхода трипанового синего в гиперемизованную ткань. Делают выводы о характере нарушений проницаемости сосудов обмена под влиянием раздражителя — горчичного масла.

## **ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ**

1. Артериальная гиперемия. Определение понятия. 2. Виды артериальной гиперемии. 3. Значение артериальной гиперемии для организма. 4. Постанемическая артериальная гиперемия. 5. Возможные последствия артериальной гиперемии. 6. Венозная гиперемия. Определение понятия. 7. Микроциркуляторные изменения, характерные для венозной гиперемии. 8. Причины возникновения венозной гиперемии. 9. Состояние обмена веществ в области венозной гиперемии. 10. Патологические явления, наблюдаемые при венозном застое в сосудах малого круга кровообращения. 11. Патологические явления, возникающие при венозном застое в сосудах большого круга кровообращения. 12. Ишемия. 13. Внешние признаки ишемии. 14. Последствия ишемии. 15. Степень чувствительности к ишемии различных органов и тканей. 16. Инфаркт. Определение понятия. 17. Последствия

инфарктов. 18. Инфаркт миокарда. 19. Эмболия, эмбол. Определение понятий. 20. Эмболия экзогенного происхождения. 21. Эмболия эндогенного происхождения. 22. Пути миграции эмболов при попадании их в яремную вену животного. 23. Тромбоз, тромб. Определение понятий. 24. Причины, вызывающие образование тромба. 25. Классификация тромбов по патогенезу и положению в сосуде. 26. Септическое и асептическое расплавление тромба. 27. Последствия образования тромбов в артериях и венах. 28. Стаз. Определение понятия. 29. Механизм развития истинного капиллярного стаза. 30. Возможные последствия стаза.

## ЗАДАЧИ

1. При внутривенном введении корове лекарственного препарата в яремную вену попало 10—15 см<sup>3</sup> воздуха. Проследите возможные пути передвижения воздушных эмболов по системе кровообращения животного. Может ли корова в этом случае погибнуть?

2. Нередко лошади заражаются деляфондиозом — гельминтозным заболеванием, при котором половозрелые стадии паразитируют в кишечнике, а личинки — в стенке передней брыжеечной артерии. Они нарушают целостность интимы сосуда, поэтому на месте локализации паразитов в просвете артерии образуется тромбическая масса. Какие последствия такого тромбообразования могут возникнуть у больных лошадей?

3. У животного в результате эмболии произошла полная закупорка одной из ветвей легочной артерии и одной из ветвей почечной артерии. Каковы возможные последствия такой патологии в легких и почках? От чего они зависят?

4. При патологоанатомическом вскрытии трупа лошади, внезапно павшей в ясный летний день, было обнаружено массивное кровоизлияние (гематома) в ткань головного мозга. Из анамнестических данных известно, что лошадь зимой завезли в аридную зону Средней Азии из европейской части России, она имела хорошую упитанность, работала в упряжке. Какие расстройства периферического кровообращения привели к смерти животного?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Этиология и патогенез расстройств микроциркуляции.
2. Эмболии паразитарного происхождения у сельскохозяйственных животных.
3. Патогенетические аспекты тромбообразования.

## ЛИТЕРАТУРА

Коваленко Н. Я. Функциональный элемент печени в норме и патологии. Патфизиология, 1984, № 1.

Кузник Б. И., Скипетров В. П. Форменные элементы крови, сосудистая стенка, гемостаз и тромбоз. — М.: Медицина, 1975.

Патофизиология микроциркуляции и гемостаза /Под ред. Н. Н. Петрищева. — СПб., 1998.

Чернух А. М. Микроциркуляция. — М.: Медицина, 1984.

## Тема 9 ВОСПАЛЕНИЕ

**Цель занятий.** Изучить причины, механизм развития, последствия воспаления, его особенности у различных видов животных.

**Задание 1.** Изучить расстройства кровообращения и микроциркуляции в очаге воспаления.

**Опыт 1.** Сосудистая реакция при воспалении брюжейки лягушки.

**Материальное оснащение:** препаровальные дощечки (15); микроскопы (15); булавки (105); глазные ножницы (15); анатомические пинцеты (15); препаровальные иглы (15); вата (50 г); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушку наркотизируют погружением в раствор этилового спирта на 5—8 мин. Фиксируют брюшком вниз, так чтобы правый край живота находился у отверстия дощечки. Прямыми глазными ножницами делают боковой разрез брюшной стенки. Пинцетом выводят петли тонкой кишки. Брюжейку расправляют над отверстием и укрепляют булавками, косо вкалываемыми в стенку кишки. Подготовленный препарат не должен иметь кровоизлияний, брюжейка должна быть без перегибов и лежать строго горизонтально над отверстием. Дощечки с лягушками одни студенты помещают на предметный столик стереоскопического микроскопа, другие — под объектив обычного.

Изъятие брюжейки из брюшной полости, натягивание, контакт с воздухом, подсыхание вызывают развитие острого воспалительного процесса с характерными изменениями кровообращения. При микроскопировании обращают внимание на начальную и последующую скорость кровотока, распределение плазмы крови и форменных элементов, число и диаметр функционирующих сосудов, характер движения по капиллярам элементов белой крови и эритроцитов. В самом начале при внимательном наблюдении отмечают кратковременное сужение просвета сосудов. В последующем развивается артериальная гиперемия, причем вначале расширяются мелкие артерии, затем артериолы и капилляры, что подтверждают замеры диаметра сосудов, сделанные окулярным микрометром. Движение крови в сосудах вначале ускорено, функционирует вся капиллярная сеть. В сосудах четко выражен широкий осевой поток форменных элементов, по периферии — узкий плазменный слой.

Ускорение кровотока непродолжительно, артериальная гиперемия постепенно переходит в венозную. Осевой слой становится все шире, в нем четко просматриваются форменные элементы. У стенок капилляров появляются медленно перемещающиеся лейкоциты — неокрашенные клетки округлой формы. Они все чаще задерживаются на одном месте. Возникает феномен «краевого стояния лейкоцитов».

В динамике воспаления четко прослеживаются и явления экссудации. Брюжейка набухает вследствие выхода в ткань жидкой части крови — экссудата. Иногда наблюдают миграцию, диапедез и стаз.

**Оформление протокола опыта.** Фиксируют ход эксперимента. Описывают динамику сосудистых расстройств при воспалении, объясняют ее механизм. Делают выводы.

**Опыт 2.** Альтерация ткани языка лягушки при воспалении.

**Материальное оснащение:** препаровальные дощечки (15); микроскопы (15); булавки (105); кристаллы азотнокислого серебра (15—20); кюветы (15); препаровальные иглы (15); глазные пипетки (15); анатомические пинцеты (15); 0,65%-ный раствор натрия хлорида (500 мл); 1%-ный раствор метиленовой сини (30 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушку, наркотизированную алкоголем, фиксируют брюшком вниз на дощечке с таким расчетом, чтобы нижняя челюсть находилась у края отверстия в препаровальной дощечке. Открывают ротовую полость, вкалывают булавки в углы рта, осторожно пальцами и препаровальной иглой расправляют ткань языка над круглым отверстием дощечки. Следят, чтобы в языке не было нарушено кровообращение.

Подготовленный препарат помещают на столик микроскопа и рассматривают в дистальном участке языка (под малым увеличением) картину исходного кровотока в течение 1—2 мин. После этого глазным пинцетом берут кристаллик азотнокислого серебра и на 2 с прикладывают к языку. Быстро промывают физиологическим раствором, вновь наблюдают за состоянием ткани и кровообращения в очаге повреждения и за его пределами. Через 5 мин на слизистую оболочку языка наносят 1%-ный раствор метиленовой сини, через 3 мин смывают ее, обращая внимание на степень окрашивания ткани языка в центре поражения и за его пределами, а также на характер кровотока. О степени альтерации судят по интенсивности восприятия краски тканью языка.

**Оформление протокола опыта.** Записывают последовательность манипуляций, проводимых экспериментатором. Отмечают характер расстройств гемодинамики при воспалении языка. Устанавливают степень альтерации тканей при действии вредоносного агента. Объясняют наблюдаемые явления. Делают выводы.

**Опыт 3.** Участие нервной системы в развитии сосудистых изменений при воспалении.

**Материальное оснащение:** препаровальные дощечки (15); микроскопы (15); глазные пипетки (15); булавки (105); анатомические пинцеты (15); глазные ножницы (15); кюветы (15); вата (65 г); 0,65%-ный раствор натрия хлорида (260 мл); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); 2%-ный раствор азотнокислого серебра (6 мл); раствор адреналина (1 : 1000) (6 мл); дистиллированная вода (500 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушку, наркотизированную этанолом, фиксируют на дощечке. Аккуратно отпрепаровывают, не повредив сосуды, оба бедренных нерва, берут их на лигатуру. Расправляют, умеренно растягивая над двумя отверстиями в препаро-

вальной дощечке, плавательные перепонки правой и левой задних лапок. Фиксируют их косо вколотыми булавками. Препарат помещают на столик микроскопа. Под малым увеличением изучают нормальный кровоток. Левую, контрольную, лапку смачивают изотоническим раствором натрия хлорида, а на правой повреждают кожу и вызывают воспаление 2—3 каплями 2%-ного раствора азотнокислого серебра. Изучают возникающие изменения кровотока. Через 30 с раздражитель смывают обильным количеством дистиллированной воды и вновь наблюдают за меняющейся картиной кровообращения в очаге воспаления. Периодически сравнивают микроскопическую картину кровотока поврежденной лапки с контрольной.

Через 15 мин после нанесения повреждения на кожу плавательных перепонку обеих конечностей капают 2—3 капли раствора адреналина (1 : 1000). Отмечают возникающие изменения. Через несколько минут адреналин смывают. Пробу повторяют 2—3 раза.

Перерезают оба седалищных нерва, их периферические концы механически раздражают пинцетом или кладут на электроды и действуют на них электрическим током. Наблюдают за реакцией сосудов обеих конечностей в ответ на раздражение. Анализируют характер изменений кровообращения в воспаленной ткани и интактной.

**Оформление протокола опыта.** Записывают ход эксперимента, зарисовывают микроскопическую картину кровотока в плавательных перепонках обеих лапок лягушки. На основании наблюдений делают выводы об участии нервной системы в развитии сосудистой реакции при воспалении.

**Опыт 4.** Эмиграция лейкоцитов при воспалении мочевого пузыря лягушки (опыт Конгейма).

**Материальное оснащение:** стеклянные пластинки (15); микроскопы (15); анатомические пинцеты (15); глазные ножницы (15); канюли с резинками и зажимами на них (15); покровные стекла (15); хирургические иглы с нитью (15); 70%-ный раствор этилового спирта (260 мл); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушку, наркотизированную алкоголем, фиксируют брюшком вверх на стеклянной пластинке. Очень осторожно боковым разрезом вскрывают брюшную полость, на прямую кишку накладывают лигатуру. В клоаку неглубоко вводят стеклянную канюлю с резиновой трубкой и зажимом на конце. Через нее слегка раздувают мочевой пузырь, который выходит наружу через боковой разрез. На мочевой пузырь кладут покровное стеклышко. Препарат помещают на столик микроскопа. Для наблюдений сначала устанавливают среднее увеличение микроскопа. Определяют оптимальное для наблюдений место с хорошо развитой и легко различимой сетью капилляров. Затем используют иммерсионную систему.

В стенке мочевого пузыря под воздействием неблагоприятных факторов среды (растяжение, контакты с воздухом и покровным стеклом, подсыхание) очень быстро возникает воспалительный процесс с характерными сосудисто-тканевыми изменениями. Кратковременный спазм сосудов сменяется артериальной гиперемией, которая быстро переходит в венозную. Особенно хорошо просматриваются замедленное движение лейкоцитов вдоль стенки капилляра и их остановка. Отмечают краевое стояние лейкоцитов. Эндотелий капилляров и венул как бы выстлан бесцветными округлыми клетками. При более длительном наблюдении видно, что некоторые клетки вытягиваются, проникают в стенку капилляра, перемещаются и выходят в ткань, за пределы сосуда.

Передвигая поле зрения, можно обнаружить красные тромбы, петехии — точечные кровоизлияния и выход эритроцитов через капиллярную стенку, т. е. диапедез.

**Оформление протокола опыта.** Зарисовывают микроскопическую картину краевого стояния лейкоцитов, эмиграции и диапедеза. Объясняют механизм обнаруженных явлений. Делают выводы.

**Опыт 5.** Внешние признаки воспаления, их проявление у лошадей и крупного рогатого скота.

**Материальное оснащение:** шприцы на 1 мл с иглами (2); скипидар (6 мл); изогнутые ножницы (2); стеклянные палочки с ватным тампоном (2); электротермометры (2); 5%-ный спиртовой раствор йода (10 мл); подопытные животные: лошади (2), быки (2).

**Постановка опыта.** Лошади и быку за 5—7 дней до занятий студенты (члены научного кружка при кафедре) в асептических условиях подкожно вводят в области подгрудка по 1 мл скипидара.

Во время занятий каждый студент определяет внешние признаки воспаления. У лошади образуется припухлость (*tumor*), обусловленная воспалительным отеком подкожной клетчатки. При прощупывании обнаруживают болезненность (*dolor*) в области очага воспаления. На ощупь и при измерении электротермометром устанавливают повышение температуры (*calor*) кожи воспаленного участка по сравнению с окружающими здоровыми тканями. У животного со светлой окраской волосяного покрова и кожи легко выявляется покраснение (*rubor*). При проводке заметна скованность движений передних конечностей — нарушение функций (*functio laesa*).

У быка подкожное введение того же раздражителя, в той же дозе, в ту же анатомическую область выраженного воспалительного процесса не вызывает, что объясняется особенностями видовой реактивности крупного рогатого скота.

**Оформление протокола опыта.** Характеризуют признаки воспаления у подопытной лошади. Объясняют меха-

низм их развития. Делают вывод о сравнительной чувствительности сельскохозяйственных животных разных видов к флогогенным факторам.

*Опыт 6.* Фагоцитарная активность нейтрофильных лейкоцитов при воспалении.

**Материальное оснащение:** микроскопы (15); пробирки Флоринского (30); штативы для пробирок (4); фотоэлектроколориметры (2); пипетки (15); предметные стекла (30); термостаты (2); раствор гепарина (5000 ЕД в 1 мл) (3 мл); 0,9%-ный раствор натрия хлорида (30 мл); взвесь суточной культуры *E. coli* (2 млрд микробных тел в 1 мл) (15 мл); спиртовой раствор краски Романовского (100 мл); кровь от здорового животного (5 мл); кровь от животного с острым гнойным воспалением (5 мл).

**Постановка опыта.** Берут 24-часовую агаровую культуру *E. coli*, смывают ее изотоническим раствором натрия хлорида и стандартизируют взвесью до содержания в 1 мл раствора 2 млрд микробных тел. С этой целью используют ФЭК. Выбирают светофильтр с длиной волны 540 нм, кюветы с расстоянием между гранями 3 мм. Одну из них заполняют дистиллированной водой, вторую — взвесью микробных тел. Взвесь доводят до оптической плотности 0,400, что соответствует 2 млрд микробных тел в 1 мл взвеси.

Для сопоставления фагоцитарной активности клеток крови здоровых и больных животных в стерильную пробирку осторожно вносят 0,5 объема гепарина с изотоническим раствором натрия хлорида (1 часть гепарина и 4 части изотонического раствора), 1 объем свежеполученной крови и 0,5 объема стандартизированной взвеси суточной культуры *E. coli*. Пробирки со смесью встряхивают и помещают в термостат на 1 ч при температуре 38 °С. После изъятия из термостата содержимое пробирок снова хорошо встряхивают, а затем делают мазки. Последние высушивают и окрашивают по методу Филлипсона: нефиксированный препарат покрывают 20-ю каплями спиртового раствора краски Романовского (4 части этилового спирта и 1 часть краски фабричного изготовления). Спустя 5 мин к краске на мазке приливают 20 капель дистиллированной воды. Через 20 мин краску смывают, мазки сушат на воздухе или в термостате.

Окрашенный мазок исследуют под микроскопом с иммерсией, используя объектив 90. Пользуясь четырехпольным методом Мандра, в 100 нейтрофилах подсчитывают количество фагоцитированных микробных клеток, определяя фагоцитарный индекс. Одновременно устанавливают фагоцитарную активность, для чего определяют число нейтрофилов, участвующих в процессе фагоцитоза, сопоставляют его с общим количеством найденных нейтрофильных лейкоцитов и выражают в процентах. Делением числа фагоцитарных микробов *E. coli* на число участвовавших в фагоцитозе нейтрофилов находят еще один показатель — фагоцитарную активность.

По трем найденным показателям сопоставляют функцию фагоцитоза элементов крови у здоровых животных и животных с воспалительным процессом.

**Оформление протокола опыта.** Записывают методику изучения фагоцитарной активности нейтрофилов. В тетради отмечают результаты исследования фагоцитарной функции нейтрофилов крови у здоровых животных и у животных с развитым воспалительным процессом. Объясняют механизм активации нейтрофильных лейкоцитов при гнойном воспалении. Делают выводы о роли нейтрофилов в воспалении.

**Задание 2.** Изучить свойства воспалительного экссудата.

**Опыт 1.** Ферментативная активность гнойного экссудата.

**Материальное оснащение:** штативы для пробирок (15); центрифуги (2); центрифужные пробирки (7); пробирки (135); гнойный экссудат (50 мл); термостаты (2); pH-метры (2); стеклянные колбы на 5 мл (15); белок яйца (1,5 г); 0,1%-ный водный раствор крахмала (120 мл); раствор Люголя (1 часть кристаллического йода, 2 части калия йодида, 17 частей воды) (8 мл); 20%-ный раствор сульфосалициловой кислоты (23 мл); свежеполученная сыворотка крови подопытного животного (4 мл); водная эмульсия монобутирина (1 : 1000) (15 мл).

**Постановка опыта.** В пробе гноя определяют наличие протеолитических, липолитических, амилолитических ферментов. Для проведения исследований экссудат, полученный из абсцесса, наливают в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение 10 мин при  $3000 \text{ мин}^{-1}$ . Для опытов используют надосадочную жидкость — сыворотку гноя.

Амилолитическую активность гноя выявляют при установлении титра амилолитических ферментов (амилаза, диастаза) в исследуемой пробе. С этой целью берут девять пробирок и помещают их в штатив. В одну пробирку наливают 1 мл гнойной сыворотки в разведении 1 : 10, в остальные — по 1 мл физиологического раствора. Затем во вторую пробирку добавляют 1 мл гнойной сыворотки в разведении 1 : 10 и тщательно перемешивают. Из этой пробирки берут 1 мл жидкости и переносят в третью пробирку, из третьей в четвертую и так далее, последовательно уменьшая концентрацию ферментов гноя. Из последней пробирки после взбалтывания для уравнивания объема выливают 1 мл содержимого.

После этого во все девять пробирок приливают по 1 мл водного раствора крахмала в разведении 1 : 1000. Жидкости перемешивают легким встряхиванием, и штатив с пробирками, размещенными в строгой последовательности, ставят в термостат на 20 мин при температуре  $37^\circ\text{C}$ . По истечении времени, необходимого для гидролиза крахмала, штатив вынимают из термостата и во все девять пробирок прибавляют по две капли раствора Люголя.

Титр определяют по окрашиванию содержимого пробирки. При наличии нерасщепленного крахмала жидкость в пробирках



окрашивается в фиолетовый цвет. При полном расщеплении крахмала ферментами гноя содержимое пробирки приобретает желтоватый цвет. Частичное расщепление крахмала выявляют по фиолетово-красному (амилодекстрин) и красному (эритродекстрин) цвету. Титр амилолитических ферментов гноя устанавливают по пробирке, содержимое которой окрашивается раствором Люголя в красный цвет.

Протеолитическую активность гноя определяют по его способности к расщеплению белка куриного яйца. С этой целью белок яйца разводят водой в 150 раз. В каждую из восьми пробирок, стоящих в штативе, наливают по 1 мл этого раствора. Затем в первую пробирку добавляют одну каплю центрифугата гноя, в последующие пять пробирок приливают гной по каплям в нарастающем количестве (от двух до шести капель). В седьмую пробирку добавляют шесть капель сыворотки крови, в восьмую — шесть капель изотонического (0,15 моль/л) раствора натрия хлорида. Этим же раствором выравнивают объемы в первых пяти пробах. Штатив с пробирками помещают в термостат на 30 мин при температуре 37 °С. По истечении этого времени штатив извлекают, во все пробирки добавляют по две капли 20%-ного (0,91 моль/л) раствора сульфосалициловой кислоты.

При полном гидролизе белка яйца протеолитическими ферментами гноя жидкость в пробирке остается прозрачной, помутнение пробы свидетельствует о наличии нерасщепленного субстрата. Таким образом, по степени помутнения раствора судят о переваривающей способности гнойного экссудата, которая условно обозначается количеством капель сыворотки гноя, полностью гидролизующих белок в испытуемой пробе за 30 мин экспозиции в термостате.

Липолитическую активность гноя выявляют по его способности расщеплять нейтральный жир на жирные кислоты, изменяющие рН среды в кислую сторону. Предварительно готовят эмульсию монобутирина. Для этого берут 1 г искомого жиропродукта и 1 л дистиллированной воды, смесь взбалтывают на шейкатель-аппарате в течение 3—4 ч до получения равномерной взвеси.

Во время занятий 1 мл сыворотки гноя в стеклянной колбочке смешивают с 1 мл жировой эмульсии. С помощью индикаторной бумаги или рН-метра определяют кислотность смеси. Затем колбочку на 30 мин помещают в термостат при температуре 37 °С. После инкубации вновь измеряют рН пробы. Сопоставляют значения водородного показателя, полученные до и после выдержки смеси в термостате. О наличии липазы в гнойном экссудате судят по существенному снижению рН в испытуемой эмульсии после инкубирования.

**Оформление протокола опыта.** Объясняют принципы выявления в гнойном экссудате амилолитических,

протеолитических и липолитических ферментов. Записывают результаты исследований, обсуждают полученные данные. Делают выводы.

## Опыт 2. Цитологический анализ гнойного экссудата.

Материальное оснащение: предметные стекла (15); микроскопы (15); стерильные ватные тампоны (39); термостат (1); спирт-ректификат (65 мл); спирт метиловый абсолютный (65 мл); краска Романовского—Гимзы (120 мл); иммерсионное масло (6 мл); подопытные животные с гнойной раной (2).

**Постановка опыта.** Цитологическую картину воспалительного экссудата изучают при получении раневых отпечатков по М. П. Покровской и М. С. Макарову (1942). В хирургической клинике заранее подбирают больное животное с раневой поверхностью, покрытой гнойным экссудатом.

Обычным способом, так же как и для гематологических исследований, готовят предметные стекла. Во время проведения лабораторных занятий хорошо вымытые и обезжиренные предметные стекла опускают в спирт (96%-ный), затем вынимают, остатки спирта поджигают. После охлаждения стекло готово к использованию для приготовления раневых отпечатков. При большом количестве гноя, покрывающего рану, его удаляют с помощью стерильных влажных ватных тампончиков. После этого поверхность стекла, отступив 1 см от узкого края, прикладывают к воспаленной ткани. Передвигая стекло, последовательно наносят несколько мазков-отпечатков. На стекле остаются тканевые клетки, клетки экссудата и микроорганизмы. При получении мазков не следует проводить стеклом по поверхности раны и тем самым предупреждать возможность повреждения клеточных элементов экссудата. Чтобы не исказить картины взаиморасположения фагоцитов и микроорганизмов, иногда располагающихся гнездами, нужно слегка прикоснуться стеклом к избранному участку раны и тотчас же отнять его в положении, строго перпендикулярном к раневой поверхности. Для полноты характеристики раневого процесса отпечатки лучше делать с разных участков очага повреждения, например от центра к периферии.

Полученные раневые мазки-отпечатки сушат, затем фиксируют в течение 5 мин метиловым спиртом (этиловым спиртом в равной смеси с этиловым эфиром в течение 15 мин). Фиксированные и высушенные в термостате или на воздухе препараты окрашивают по методу Романовского—Гимзы.

При микроскопировании окрашенных мазков-отпечатков обращают внимание на наличие нейтрофилов разной степени зрелости, микро- и макрофагов, фагоцитирующих стрепто- и стафилококков, других возбудителей инфекционного процесса. Устанавливают активность фагоцитов в разных участках раны.

По цитограммам раневых отпечатков можно определить активность защитных и регенераторных реакций организма, степень

бактериальной обсемененности и патогенности микроорганизмов, инфицирующих рану. Перечисленные факторы обуславливают динамику заживления ран. Обнаружение полиморфно-ядерных нейтрофильных лейкоцитов, активно фагоцитирующих возбудителей инфекционного процесса, свидетельствует о высокой активности фагоцитарной реакции. В более позднем периоде заживления раны хорошим признаком считается выявление большого числа макрофагов — моноцитарных клеток.

**Оформление протокола опыта.** Записывают методику приготовления мазков-отпечатков. Отмечают результаты цитологического анализа испытуемого экссудата, обсуждают их и делают выводы.

**Опыт 3.** Определение концентрации водородных ионов в гнойном экссудате.

**Материальное оснащение:** рН-метры (2); центрифуга (2); центрифужные пробирки (4); стеклянные колбы (4); гнойный экссудат (10 мл); сыворотка крови (8 мл).

**Постановка опыта.** Для определения концентрации водородных ионов в гнойном экссудате его наливают в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение 10 мин при 3000 мин<sup>-1</sup>. Затем берут надосадочную жидкость и с помощью рН-метра, в соответствии с инструкцией по его использованию, или полосок индикаторной бумаги устанавливают рН-пробы. Контролем служит сыворотка крови, полученная от того же животного, у которого был взят гной.

Обнаруживают, что вследствие интенсивного обмена в очаге воспаления и накопления там межклеточных продуктов обмена углеводов (молочная кислота, α-кетоглутаровая, янтарная, яблочная), жиров (жирные кислоты, кетоновые тела), белков (свободные аминокислоты, полипептиды) в гнойном экссудате повышается концентрация ионов водорода, возникает ацидоз, существенно снижается рН (до 5,3 при норме 7,2—7,4).

**Оформление протокола опыта.** Записывают ход опыта, рН гнойного экссудата и сыворотки крови. Объясняют патогенетическое значение повышения концентрации водородных ионов в воспалительном экссудате.

## **ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ**

1. Воспаление. Определение понятия. 2. Этиологические факторы, вызывающие воспаление. 3. Внешние признаки воспаления. 4. Расстройства кровообращения и микроциркуляции в зоне воспаления. 5. Характеристика нарушений обмена веществ в очаге воспаления. 6. Роль биологически активных веществ в генезе воспаления. 7. Противовоспалительные и противовоспалительные гормоны коры надпочечников. 8. Виды экссудата. 9. Виды гнойного воспаления. 10. Эмиграция лейкоцитов при воспалении, основные теории, объясняющие это

явление. 11. Учение о фагоцитозе. Завершенный и незавершенный фагоцитоз. 12. Свойства экссудата. 13. Пролиферация. 14. Классификация воспалений по преобладанию альтерации, экссудации и пролиферации. 15. Классификация воспалений по реактивности организма. 16. Воспаление как реакция целостного организма на повреждение. 17. Основные теории, объясняющие развитие воспаления (Вирхова, Конгейма, Мечникова, Шаде, Менкина). Их роль в становлении современных представлений о генезе воспаления. 18. Исходы воспаления. 19. Биологическая роль воспаления. 20. Особенности течения воспаления у основных видов сельскохозяйственных животных (лошадей, крупного рогатого скота, свиней и птиц).

## ЗАДАЧИ

1. У лошади диагностировали крупозное воспаление легких. Основные симптомы: лихорадка постоянного типа, одышка, кашель, снижение аппетита, нейтрофильный лейкоцитоз, анемия. Какие явления при данном заболевании следует отнести к повреждению, какие — к компенсаторно-приспособительным механизмам?

2. При внутрикожном введении туберкулина у одной коровы на месте инъекции препарата через сутки возникло обширное, горячее и болезненное припухание, у второй коровы припухание едва заметно. Назовите тип воспаления, возникший в ответ на флогогенный агент у первого и второго животных. Объясните различие в механизме развития двух форм наблюдаемых воспалительных процессов.

3. При вскрытии истощенного трупа коровы обнаружен туберкулез легких со множественными очагами и поражением других паренхиматозных органов. Установлено, что при жизни введение животному туберкулина не вызывало гиперергического воспаления. Почему больное животное не реагировало на специфический раздражитель? Как называют воспаление с плохо выраженными признаками? Каковы причины такой реакции организма на патогенный агент?

4. У лошади, доставленной в ветеринарную лечебницу, наблюдали сильную хромоту на левую грудную конечность. При обследовании был выявлен гнойный пододерматит (воспаление основы кожи копыта). После вскрытия гнойной полости хромота стала едва заметной. Как объяснить механизм сравнительно быстрого исчезновения хромоты у животного?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Видовые особенности воспаления у сельскохозяйственных животных.
2. Стероидные гормоны в патогенезе воспаления.
3. Взаимоотношения воспалительной и иммунной реакций.

## ЛИТЕРАТУРА

Воспаление и нестероидные противовоспалительные средства /Ред. Н. Н. Петрищева. — СПб., 1996.

Буянов А. А. Воспаление у животных. — СПб., 1992.

Мастыко Г. С. Асептические и септические воспаления у сельскохозяйственных животных. — Минск: Ураджай, 1985.

Маянский Д. Н. Хроническое воспаление. — М., 1991.

Мечников И. И. Лекция о сравнительной патологии воспаления. — М.: Медгиз, 1947.

Чернух А. М. Воспаление. — М.: Медицина, 1979.

## Тема 10

### ЛИХОРАДКА

**Цель занятий.** Изучить этиологию и патогенез лихорадки у животных различных видов, ее биологическое значение.

**Задание.** Изучить некоторые механизмы лихорадки у подопытных животных.

**Опыт 1.** Моделирование лихорадочной реакции на бактериальный пироген у лошади.

**Материальное оснащение:** станки для лошадей (2); электрокимографы (2); капсулы Марeya (2); пневмографы (2); электрокардиографы (2); термографы или электротермометры (2); изогнутые ножницы (2); мыльная паста (1 тюбик); вата (15 г); раствор пирогенала (500 МПД — максимальных пирогенных доз в 1 мл) (32 ампулы по 1 мл); 5%-ный спиртовой раствор йода (16 мл); 10%-ный раствор натрия хлорида (200 мл); подопытные животные: лошади (2).

**Постановка опыта.** Для эксперимента берут клинически здоровую лошадь в возрасте старше одного года. Животное помещают в станок и в исходном состоянии определяют частоту и глубину дыхательных движений, электрокардиографические показатели и температуру тела (ректальную). Частоту дыхательных движений устанавливают визуально по экскурсиям грудной клетки либо регистрируют с помощью пневмографа (гофрированной трубки) на ленте электрокимографа.

Для снятия биопотенциалов сердца используют одноканальный электрокардиограф типа ЭКСПЧ-4 (модель 061) или «Малыш».

Электрокардиограмму лучше снимать не в традиционных отведениях от конечностей, а в туловищных, сагиттальных отведениях, рекомендованных для копытных животных М. П. Рошчевским (1965, 1978). Система сагиттальных отведений обеспечивает больший вольтаж зубцов и стабильность форм электрокардиограмм, что важно при многочасовом эксперименте.

В качестве электродов применяют бельевые металлические прищепки. Для уменьшения сопротивления между электродом и кожей животного шерстный покров выстригают, место контакта смачивают мыльным раствором, между электродом и кожей размещают марлю, увлажненную 10%-ным раствором натрия хлорида.

Первый электрод с красным наконечником закрепляют на коже в области краниальной части грудной кости, второй электрод с желтым наконечником фиксируют на коже холки в области середины линии, соединяющей задние углы лопаток, третий электрод с зеленым наконечником закрепляют на коже в точке пересечения белой линии живота с перпендикуляром, опущенным от 13-го грудного позвонка.

Для основной формы электрокардиограммы лошади (в третьем сагитальном отведении) характерны низковольтный положительный зубец Р, небольшой положительный зубец R, глубокий отрицательный зубец S и высокий положительный зубец Т. Таким образом, типичная электрокардиографическая кривая лошади выглядит как PRS + Т.

При обработке электрокардиограмм (по третьему отведению) определяют среднюю длительность сердечного цикла (с), частоту сокращений сердца в 1 мин, продолжительность интервалов (с), величину основных зубцов (мВ), их направление от изопотенциальной линии (вверх — положительное, вниз — отрицательное).

Температуру тела измеряют ртутным термометром или электротермометром. В ходе опыта желательно вести автоматическую регистрацию температуры кожи и в прямой кишке. В качестве преобразователя температуры используют полупроводниковые термосопротивления. Наиболее удобны и просты для монтажа микротермосопротивления МТ-54 конструкции В. Г. Карманова.

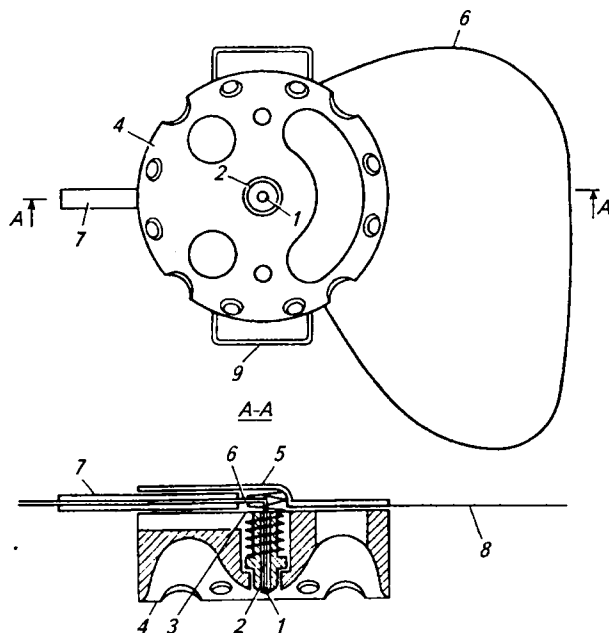


Рис. 23. Микротермистор для регистрации кожной температуры:

А — схема монтажа: 1 — датчик; 2 — подвижный стерженек; 3 — пружинка; 4 — основание конструкции; 5 — металлическая крышечка; 6 — провода; 7 — резиновая трубка; 8 — пластинка из целлюлоида; 9 — скобки

Регистрацию температуры осуществляют с помощью самописцев Н341, КСП-2 и др.

Для проведения многочасовой записи ректальной температуры у лошади терморезистор монтируют на конце пластмассового стержня диаметром 8 мм и длиной 400 мм, который вводят в прямую кишку животного (С. И. Лютинский, 1979). Такая длина оправы предотвращает выбрасывание датчика в момент дефекации. Для сохранения стабильного расположения преобразователя температуры в кишке на заданном расстоянии от анального отверстия к корню хвоста подвязывают провода, отходящие от плексигласового стержня.

Температуру кожи можно зарегистрировать с помощью микро-термистора, смонтированного в специальной накладке (рис. 23). Ее основная активная часть представлена подвижным стерженьком 2, в который вмонтирован датчик 1. В основании 4 накладки расположены вырезки, а в крышечке 5 — три отверстия. Для обеспечения постоянства приложения датчика к коже имеется мягкая пружинка 3, обвивающая стерженек. Накладку размещают на избранном, тщательно выстриженном участке кожи и фиксируют с помощью полоски резинового бинта.

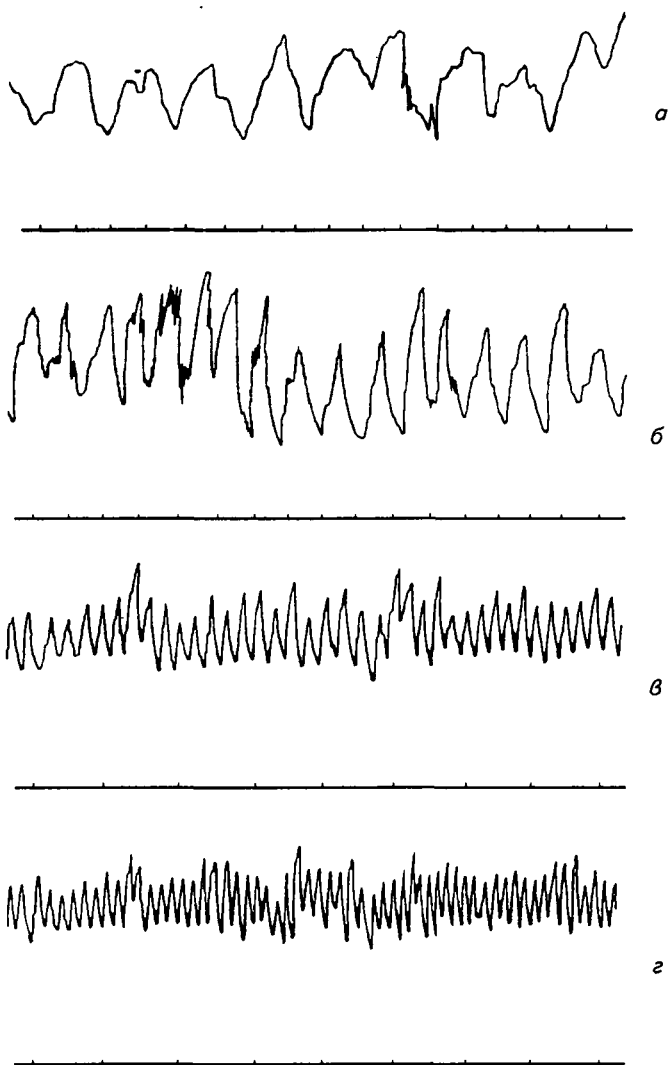
Определяют исходные показатели температуры тела, кожи, частоту дыхания, число сердечных сокращений, биоэлектрическую активность сердца, при необходимости исследуют морфологический состав крови, устанавливают ее биохимические константы и др.

Лихорадку индуцируют инъекцией подогретого до температуры тела раствора пирогенала (липолисахарид, выделенный из микробной клетки *S. typhi*) в яремную вену из расчета 20 МПД на 1 кг массы тела лошади.

После введения препарата наблюдают за общим состоянием животного. Через 15, 30, 60, 90 мин от момента инъекции вновь фиксируют температуру тела и кожи, частоту дыхания, снимают электрокардиограмму. Дополнительно проводят гематологические, биохимические и другие исследования.

Обращают внимание на быстро (в течение 10—51 мин) возникающую, весьма интенсивную мышечную дрожь, появляющуюся одышку (дыхание становится частым и поверхностным), быстрое нарастание температуры тела, обильное потоотделение, тахикардию, существенные изменения электрокардиографического поля (рис. 24 и 25).

**Оформление протокола опыта.** Записывают краткую схему эксперимента и применяемые методики исследования. Вклеивают и обрабатывают электрокардиограммы, зарегистрированные в исходном состоянии и при лихорадке. Полученные данные заносят в таблицу 14. Отмечают общее состояние лошади во время лихорадки. Делают выводы.



**Рис. 24. Пневмограммы лошади:**

*а* — в исходном состоянии; *б* — в первой стадии лихорадки, индуцированной пирогеналом; *в* — во второй стадии; *г* — в третьей стадии лихорадки



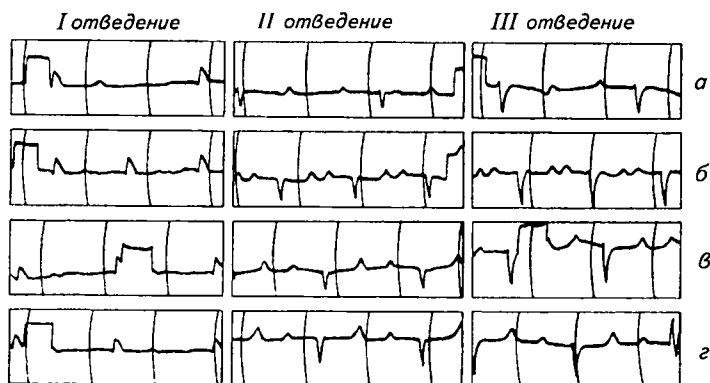
**14. Изменения температуры, частоты дыхания, сердечных сокращений и электрокардиограммы у лошади при лихорадке, индуцированной пирогеналом**

Время, мин	Температура, °С	Частота дыхания	Частота сердечных сокращений	Данные электрокардиограммы					
				продолжительность интервалов, с			величина зубцов, мВ		
				P—Q	Q—T	T—P	P	S	T
15									
30									
60									
90									

**Опыт 2.** Роль нервной системы в реализации лихорадочной реакции.

**Материальное оснащение:** клетки для кроликов (6); электротермометры (2); шприцы на 1 мл с иглой (2); шприцы на 10 мл с иглой (2); вата (10 г); 0,25%-ный раствор фенамина (6 мл); 40%-ный раствор уретана (16 мл); раствор пирогенала (100 МПД в 1 мл) (8 мл); 70%-ный раствор этилового спирта (9 мл); подопытные животные: кролики (6).

**Постановка опыта.** Для занятий с подгруппой (12—15 человек) студентов берут трех (взрослых) кроликов одного пола и близких по массе тела. Помещают их в индивидуальные решетчатые клетки. У всех животных электротермометром измеряют ректальную температуру. Затем первому кролику в ушную вену вводят 40%-ный раствор уретана из расчета 2,5 мл на 1 кг массы тела. Второму кролику инъецируют 0,25%-ный раствор фенамина из расчета 1 мл на 1 кг массы тела. Через 10 мин измеряют температуру тела у каждого кролика и в краевые вены



**Рис. 25.** Электрокардиограммы лошади в сагиттальных отведениях:

*а* — исходное состояние; *б* — в первой стадии лихорадки, индуцированной пирогеналом; *в* — во второй стадии; *г* — в третьей стадии лихорадки

уха вводят раствор пирогенала в дозе 30 МПД на 1 кг массы тела. В последующем температуру тела измеряют через каждые 10 мин. Определяют выраженность температурной реакции у кроликов в зависимости от исходного состояния центральной нервной системы.

**Оформление протокола опыта.** Записывают схему эксперимента. Данные, полученные при измерении температуры, заносят в таблицу 15. Делают выводы о значении функционального состояния центральной нервной системы в развитии лихорадочной реакции на бактериальный пироген.

**15. Температурная реакция у кроликов в зависимости от введения уретана или фенамина**

Время, прошедшее после инъекции пирогенала, мин	Температура тела у кролика, °С		
	контрольного	с предварительным введением уретана	с предварительным введением фенамина
Исходное состояние			
10			
20			
40			
50			
60			

**Опыт 3.** Основной обмен у крысы при лихорадке бактериального происхождения.

**Материальное оснащение:** плексигласовые клетки для крыс (2); эксикаторы (2); электротермометры (2); корнцанги (2); секундомеры (2); 10%-ный раствор калия гидроксида (10 мл); раствор пирогенала (100 МПД в 1 мл) (2 мл); подопытные животные: белые крысы (2).

**Постановка опыта.** Для постановки опыта берут белую крысу-самца массой более 250 г. Электротермометром измеряют ректальную температуру. Визуально подсчитывают дыхание в 1 мин. Определяют основной обмен следующим образом. На дно эксикатора для поглощения угольной кислоты выдыхаемого воздуха наливают 5 мл 10%-ного раствора калия гидроксида. На внутренний выступ кладут дырчатую фарфоровую крышку, на которую помещают подопытную крысу. Эксикатор закрывают крышкой с вмонтированной манометрической трубкой. Края крышки и эксикатора предварительно смазывают вазелином для герметизации сосуда. После помещения туда крысы за счет согревания воздуха давление в эксикаторе несколько повышается. Уровень жидкости в манометрической трубке снижается, поэтому выжидают 5—8 мин до ее стабилизации.

Время отсчитывают с момента подъема уровня жидкости в манометре. Цена одного деления на шкале манометра равна 1 мм. Через 3 мин записывают показания манометра. После этого рас-

считывают основной обмен. Объем кислорода, поглощенного животным за 3 мин ( $X_1$ ), высчитывают по формуле

$$X_1 = HC,$$

где  $H$  — изменение величины столба жидкости, мм;  $C$  — постоянная эксикатора, равная 0,46 (должна быть определена заранее).

После этого рассчитывают условное суточное потребление кислорода ( $X_2$ ). Основной обмен ( $V$ ), измеряемый в килокалориях, у крыс будет

$$V = 4,8 \cdot X_2,$$

где 4,8 — средний тепловой эквивалент 1 л кислорода.

Затем крысу помещают в ограничительную решетчатую плетк-сигласовую клеточку, на конечности накладывают электроды и записывают электрокардиограмму во втором стандартном отведении. Получив исходные данные о температуре тела, основном обмене, дыхании, деятельности сердца, крысе в хвостовую вену вводят бактериальный пироген — пирогенал из расчета 3,5 МПД на 100 г массы тела. Через 40—50 мин крысу снова подвергают описанному выше исследованию, но уже во время лихорадки.

**Оформление протокола опыта.** Записывают условия опыта. Отрезки электрокардиограмм, полученных в исходном состоянии и в период лихорадки, вклеивают в тетрадь. Обрабатывают результаты опыта и заносят их в таблицу 16.

**16. Изменения основного обмена, температуры тела, частоты дыхания, сердечных сокращений и ЭКГ у крысы при лихорадке бактериального происхождения**

Состояние животного	Температура тела, °C	Число дыханий в 1 мин	Основной обмен, ккал/сут	Число сердечных сокращений в 1 мин	ЭКГ				
					продолжительность интервалов, с			вольтаж зубцов, мВ	
					P—Q	Q—T	T—P	P	R T

Исходное

Лихорадочное

Анализируют данные. Делают выводы об изменениях основных функций организма крысы во время лихорадки.

## ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

1. Лихорадка. Определение понятия. 2. Этиология лихорадки. 3. Стадии лихорадки. 4. Патогенез лихорадки. 5. Состояние основных функций организма при лихорадке. 6. Нарушения углеводного, жирового, белкового обменов во время лихорадки. 7. Роль нервной и эндокринной систем в патогенезе лихорадочной реак-

ции. 8. Типы температурных кривых. 9. Классификация лихорадки по степени повышения температуры. 10. Особенности лихорадочной реакции у сельскохозяйственных животных разных видов. 11. Значение лихорадки для организма. 12. Общее представление о пиротерапии.

## ЗАДАЧИ

1. Подопытной свинье в краевую вену уха ввели раствор пирогенала в максимально пирогенной дозе. При обследовании животного температура тела превышала исходную на  $0,7^{\circ}\text{C}$ , дыхание было частым (42 дыхательных движения в 1 мин), поверхностным. Отмечали тахикардию (86 сокращений сердца в 1 мин). Температура кожи превышала исходную на  $1,3^{\circ}\text{C}$ . Какая стадия лихорадки была у подопытного животного? Каковы видовые особенности реакции на пирогенные раздражители у свиней?

2. Из температурного графика больной, лихорадящей лошади следует, что показатели ректальной температуры утром и вечером колеблются в пределах  $0,6—0,8^{\circ}\text{C}$ . Какой тип лихорадочной кривой у больного животного? Для каких заболеваний он характерен?

3. Известно, что парентеральное введение курам живой сибиреязвенной культуры не вызывает у них заболевания. Переохлаждение подопытных кур в холодной воде способствует развитию заболевания. Как объяснить этот феномен? Каково биологическое значение лихорадочной реакции?

4. Повышение температуры тела у сельскохозяйственных животных регистрируют при наличии инфицированных ран, при некрозе тканей, после переохлаждения, при повышенной инсоляции, под влиянием внешнего перегревания, при инфекционных заболеваниях, как результат переутомления, при аллергии, инъекциях скипидара, адреналина, фенамина, альфа-динитрофенола, психогенном стрессе, ожоговой и лучевой болезнях, опухолях, внутренних кровоизлияниях, в послеоперационном периоде. В каких из этих случаев повышение температуры тела следует отнести к лихорадочной реакции?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Роль первичных (экзогенных) и вторичных (эндогенных) пирогенов в патогенезе лихорадочной реакции.

2. Значение лихорадки для организма.

3. Видовые особенности лихорадочной реакции у лошадей, свиней, рогатого скота.

## ЛИТЕРАТУРА

Веселкин П. Н. Лихорадка. — М.: Медгиз, 1963.

Гурин В. Н. Центральные механизмы терморегуляции. — Минск: Беларусь, 1980.

Козлов Н. Б. Гипертермия: биохимические основы патогенеза, профилактики, лечения. — Воронеж, 1990.

Лютинский С. И. Лихорадочная реакция у сельскохозяйственных животных. — Л.: ВИНТИ, 1979.

Стояновский С. В. Биоэнергетика сельскохозяйственных животных: особенности и регуляция. — М.: Агропромиздат, 1985.

Шевельков Е. А. Эволюция лихорадочной реакции. — Л.: Медицина, 1969.

Шестакова С. А., Белявский Е. Н. Патопфизиология терморегуляции. Лихорадка. — СПб., 1996.

## ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ТИПОВЫХ НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

**Цель занятий.** Изучить этиологию, патогенез и проявления нарушений кислотно-основного равновесия у животных с патологией обмена веществ в эксперименте, этиологию, патогенез и проявления нарушений углеводного, водного и электролитного обменов.

**Задание 1.** Изучить механизмы нарушений кислотно-основного равновесия.

**Опыт 1.** Изменение резервной щелочности крови собаки, у которой удалена поджелудочная железа.

**Материальное оснащение:** шприцы на 10 мл с иглами (2); центрифужные пробирки (4); аппараты Ван-Слайка (2); делительные воронки (2); центрифуги (2); банки с бусами (2); измерительные пипетки на 1 мл (6); капиллярный спирт (10 мл); дистиллированная вода (25 мл); раствор гепарина (5000 ЕД в 1 мл) (2 мл); 1%-ный раствор аммиака (10 мл); 10%-ный раствор серной кислоты (10 мл); подопытные животные: интактная собака, депанкреатизированная собака.

**Постановка опыта.** У интактной собаки (контрольной) и у собаки с удаленной поджелудочной железой берут кровь из вены по 5 мл в пробирки, в которые предварительно внесен антикоагулянт. Кровь перемешивают с антикоагулянтом, в качестве которого можно взять гепарин (20 ЕД на 1 мл). Центрифугированием получают плазму крови для определения в ней резервной щелочности в аппарате Ван-Слайка (рис. 26).

Определение резервной щелочности в аппарате Ван-Слайка включает четыре операции.

1. Для приготовления плазмы крови в центрифужную пробирку вносят один из антикоагулянтов (гепарин 20 ЕД на 1 мл, трилон Б 1 мг на 1 мл, оксалат калия 5 мг на 1 мл). Затем берут из вены кровь, 5 мл которой вливают в пробирку и перемешивают с антикоагулянтом. Пробирку центрифугируют в течение 10 мин при  $1500 \text{ мин}^{-1}$ .

2. Насыщение плазмы крови углекислотой проводят в делительной воронке, соединенной с банкой, заполненной стеклянными бусами (рис. 27). В делительную воронку вносят 2—3 мл плазмы крови, открывают кран, делают неглубокий вдох и через банку с бусами как можно быстрее и полнее вдыхают воздух в делительную воронку. В конце выхода делительную воронку закрывают пробкой, перекрывают кран и отделяют от банки с бусами. Затем делительную воронку медленно вращают вокруг оси в течение 3—5 мин для более полного насыщения плазмы углекислотой альвеолярного воздуха. После этого воронку помещают в кольцо штатива, чтобы плазма полностью стекла на ее дно.

Рис. 26. Аппарат Ван-Слайка:

1 — газометрическая бюретка; 2 — смеситель; 3 — наружная бюретка; 4 — боковая трубка; 5 и 6 — сообщающиеся трубки; 7 — верхний двухходовой кран; 8 — нижний двухходовой кран; 9 — резиновая трубка; 10 — стеклянная груша

3. Для подготовки аппарата Ван-Слайка к работе наружную и газометрическую бюретки промывают 1%-ным раствором аммиака. Для этого открывают нижний кран, в наружную бюретку наливают 2—3 мл 1%-ного раствора аммиака и переводят верхний кран на соединение с наружной бюреткой. Промывают аппарат, опуская и поднимая 2—3 раза грушу с ртутью. Затем верхний кран переводят на соединение с боковой трубкой, через которую удаляют аммиак. Весь аппарат заполняют ртутью так, чтобы в боковую трубку и наружную бюретку вышло немного ртути, верхний кран закрывают.

Проверку готовности аппарата Ван-Слайка к работе проводят с целью убедиться в том, что над ртутью при закрытом верхнем кране отсутствуют воздух и жидкость. С этой целью грушу с ртутью опускают вниз, создавая вакуум в измерительной бюретке, а затем быстро поднимают выше верхнего крана. В газометрической бюретке ртуть сначала опускается, а затем быстро поднимается, и если отсутствуют воздух и жидкость, она издает металлический звук при ударе о верхний кран.

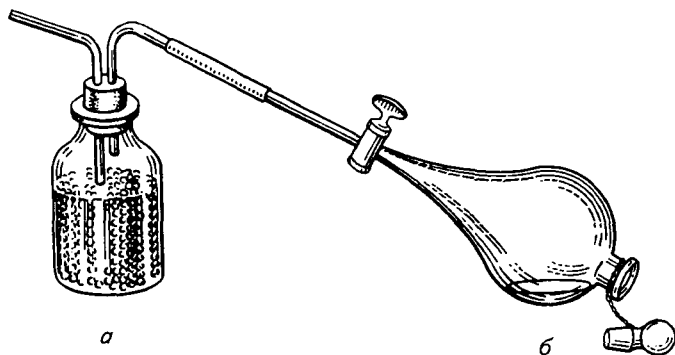
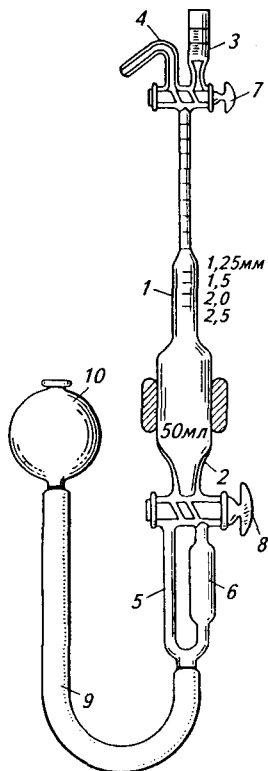


Рис. 27. Банка со стеклянными бусами (а) и делительная воронка (б)

4. Вытеснение углекислого газа из плазмы крови и определение его объема проводят следующим образом. В наружную бюретку наливают 0,5 мл раствора аммиака, под который вводят 1 мл плазмы крови из делительной воронки. Всю плазму и часть аммиака переводят в газометрическую бюретку, открывая верхний кран и осторожно опуская грушу. Кран закрывают. В наружную бюретку наливают 0,5—0,6 мл дистиллированной воды и каплю каприлового (октилового) спирта и опять переводят в газометрическую бюретку оставшуюся часть раствора аммиака и большую часть воды, смывая остаток плазмы. Верхний кран снова закрывают, а в наружную бюретку наливают 0,5 мл 10%-ного раствора серной кислоты. Все это переводят в газометрическую бюретку, осторожно опуская ртуть до метки 2,5 мл. Верхний кран закрывают.

Опустив грушу с ртутью вниз, доводят уровень ртути до метки 50 мл и закрывают нижний кран. Прибор вынимают из штатива и осторожно переворачивают вокруг поперечной оси 15—20 раз. Затем прибор укрепляют на штативе. Нижний кран переводят на соединение газометрической бюретки с расширенным коленом ниже крана. Грушу с ртутью опускают и переводят всю жидкость в расширенное колено сообщающихся трубок, нижний кран переводят на соединение узкого колена сообщающихся трубок с газометрической бюреткой. Грушу с ртутью поднимают до тех пор, пока ртуть в газометрической бюретке и груше не окажется на одном уровне. После этого нижний кран закрывают и определяют объем газа ( $\text{CO}_2$ ) по делениям бюретки. Найденный объем газа приводят к объему ( $V_0$ ) при давлении 100 кПа (760 мм рт. ст.) по формуле

$$V_0 = \frac{V_1 P_1}{P_0},$$

где  $V_1$  — найденный объем газа;  $P_0$  — 100 кПа (760 мм рт. ст.);  $P_1$  — барометрическое давление в период опыта.

Зная, что  $V_0$  — объем газа при 100 кПа (760 мм рт. ст.), и температуру, при которой проводили исследование, по таблице 17 находят количество миллилитров углекислого газа, связанное 100 мл плазмы крови в виде бикарбоната.

#### 17. Определение объема $\text{CO}_2$ (об.% $\text{CO}_2$ ), связанной в виде бикарбоната, в 100-мл плазмы крови (резервная щелочность) по методу Ван-Слайка

$V_0$	Об.% $\text{CO}_2$				$V_0$	Об.% $\text{CO}_2$			
	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C		15 °C	20 °C	25 °C	30 °C
0,20	9,1	9,9	10,7	11,8	0,61	48,7	49,0	49,4	49,6
0,21	10,1	10,9	11,7	12,6	0,62	49,7	50,0	50,4	50,4
0,22	11,0	11,8	12,6	13,5	0,63	50,7	51,0	51,3	51,4
0,23	12,0	12,8	13,6	13,8	0,64	51,6	51,9	52,2	52,3
0,24	13,0	13,7	14,5	15,2	0,65	52,6	52,8	53,2	53,2

V <sub>0</sub>	Об. % CO <sub>2</sub>				V <sub>0</sub>	Об. % CO <sub>2</sub>			
	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C		15 °C	20 °C	25 °C	30 °C
0,25	13,9	14,7	15,5	16,1	0,66	53,6	53,8	54,1	54,1
0,26	14,9	15,7	16,4	17,0	0,67	54,5	54,8	55,1	55,1
0,27	15,9	16,6	17,4	18,0	0,68	55,5	55,7	56,0	56,0
0,28	16,8	17,6	18,3	18,9	0,69	56,5	56,7	57,0	56,9
0,29	17,8	18,5	19,2	19,8	0,70	57,4	57,6	57,9	57,9
0,30	18,8	19,5	20,2	20,8	0,71	58,4	58,5	58,8	58,8
0,31	19,8	20,4	21,2	21,7	0,72	59,4	59,5	59,8	59,7
0,32	20,7	21,4	22,1	22,6	0,73	60,3	60,5	60,7	60,6
0,33	21,7	22,3	23,0	23,5	0,74	61,3	61,4	61,7	61,6
0,34	22,6	23,3	24,0	24,6	0,75	62,3	62,4	62,6	62,5
0,35	23,6	24,2	24,9	25,4	0,76	63,2	63,3	63,6	63,4
0,36	24,6	25,2	25,8	26,3	0,77	64,2	64,3	64,5	64,3
0,37	25,5	26,2	26,8	27,3	0,78	65,2	65,3	65,5	65,3
0,38	26,5	27,1	27,7	28,2	0,79	66,1	66,2	66,4	66,2
0,39	27,5	28,1	28,7	29,1	0,80	67,1	67,2	67,3	67,1
0,40	28,4	29,0	29,6	30,0	0,81	68,1	68,1	68,3	68,1
0,41	29,4	30,0	30,5	31,0	0,82	69,0	69,1	69,2	69,0
0,42	30,3	30,9	31,5	31,9	0,83	70,0	70,0	70,2	69,9
0,43	31,3	31,9	32,4	32,8	0,84	71,0	71,0	71,1	70,8
0,44	32,3	32,8	33,4	33,8	0,85	71,9	72,0	72,1	71,8
0,45	33,2	33,8	34,3	34,7	0,86	72,9	72,9	73,0	72,7
0,46	34,2	34,7	35,3	35,6	0,87	73,9	73,9	74,0	73,6
0,47	35,2	35,1	36,2	36,5	0,88	74,8	74,8	74,9	74,5
0,48	36,2	36,6	37,2	37,4	0,89	75,8	75,8	75,8	75,4
0,49	37,1	37,6	38,1	38,4	0,90	76,8	76,8	76,8	76,4
0,50	38,1	38,5	39,0	39,3	0,91	77,8	77,7	77,7	77,3
0,51	39,1	39,5	40,0	40,3	0,92	78,7	78,6	78,7	78,2
0,52	40,0	40,4	40,9	41,2	0,93	79,7	79,6	79,6	79,2
0,53	41,0	41,4	41,9	42,1	0,94	80,7	80,5	80,6	80,1
0,54	42,0	42,4	42,8	43,0	0,95	81,6	81,5	81,5	81,0
0,55	42,9	43,3	43,8	43,9	0,96	82,6	82,5	82,4	82,0
0,56	43,9	44,3	44,7	44,9	0,97	83,6	83,4	83,4	82,9
0,57	44,9	45,3	45,7	45,8	0,98	84,5	84,4	84,3	83,8
0,58	45,8	46,2	46,6	46,7	0,99	85,5	85,3	85,2	84,8
0,59	46,8	47,1	47,5	47,6	1,00	86,5	86,2	86,2	85,7
0,60	47,7	48,1	48,5	48,6					

Нормальные показатели щелочного резерва крови составляют: у собак 40—60 об. % CO<sub>2</sub>, у овец 50—52, у крупного рогатого скота 46—54 об. % CO<sub>2</sub>.

**Оформление протокола опыта.** В протоколе кратко излагают постановку опыта и записывают показатели щелочного резерва крови у интактной и депанкреатизированной собак. Делают выводы. Объясняют механизм нарушения и компенсации кислотно-основного равновесия у собаки с удаленной поджелудочной железой.

**Опыт 2.** Изучить изменение резервной щелочности крови собаки после длительной потери желудочного сока.



Материальное оснащение: шприцы на 10 мл с иглами (2); центрифужные пробирки (4); аппараты Ван-Слайка (2); делительные воронки (2); гепарин (1 флакон); набор реактивов (см. предыдущий опыт); подопытные животные: интактная собака, собака с басовской фистулой.

**Постановка опыта.** У интактной собаки и собаки с басовской фистулой, которая в течение 2—3 дней перед занятием была постоянно открыта, берут из вены по 5 мг крови в отдельные пробирки с одним из антикоагулянтов (трилон Б 1 мг на 1 мл, оксалат калия 5 мг на 1 мл, гепарин 20 ЕД на 1 мл). Центрифугированием получают плазму крови, в которой определяют резервную щелочность в аппарате Ван-Слайка, как в предыдущем опыте.

Операция фистулы желудка предложена русским ученым Басовым в 1840 г. Собаку фиксируют в спинном положении и наркотизируют. Подготавливают операционное поле в области мечевидного хряща. По средней линии живота между мечевидным отростком и пупком делают кожно-мышечный разрез длиной 6—8 см. Затем по белой линии рассекают апоневроз. Жировую клетчатку отодвигают в сторону. Желудок за большой сальник наполовину извлекают наружу, обкладывают большими марлевыми салфетками, чтобы он не спустился в брюшную полость. На передней поверхности области дна желудка по большой кривизне выбирают наиболее широкое пространство между двумя кровеносными сосудами. Отступив на 3—4 см от края большой кривизны желудка, с помощью иглы среднего размера толстой крепкой ниткой обшивают кисетным швом эллипс, большой диаметр которого расположен параллельно кровеносным сосудам и равен диаметру нижнего диска вставляемой фистулы. Этот шов должен захватывать только серозную и мышечную оболочки без слизистой (в этом случае игла хорошо видна сквозь мышечную ткань при ее натяжении). Затем хирург защемяет желудок между указательным и большим пальцами левой руки ниже кисетного шва и держит его так до вставления фистулы. Острым скальпелем делают разрез по середине длинной оси обшитого эллипса, не доходя 46 см до шва. Мышечный слой разрезают только до подслизистой, которая теперь выпирает между краями разреза мышечного слоя. Ассистент правой рукой захватывает кончиком пинцета Пеана выступающую подслизистую за середину и тянет ее кверху, левой же рукой, как только хирург срезает кусочек слизистой оболочки непосредственно под концом натягивающего ее пинцета, вводит специальный фистульный крючок в полость желудка. Затем, отбросив пинцет с отрезанным кусочком слизистой, он вводит в противоположный край разреза слизистой оболочки второй крючок и растягивает отверстие в желудок.

Крючками удерживают стенки желудка на весу для того, чтобы имеющееся там содержимое не загрязнило операционное поле. Хирург, все еще не разжимая пальцев левой руки, начинает вкручивать диск фистулы в разрез желудка, вставив вырезку на ее ниж-

нем диске за края стенки желудка. Когда фистульный диск наполовину войдет в желудок, вынимают сначала один крючок, а затем и второй, и фистула вставляется полностью. Она должна быть плотно закрыта пробкой. Как только диск фистулы полностью вставлен в полость желудка, кисетный шов крепко затягивают таким образом, чтобы слизистая оболочка была погружена в полость желудка. Нитка кисетного шва должна плотно облегать фистульную трубку.

Вокруг фистулы накладывают второй мышечный кисетный шов, отступив на 1 см от первого шва, второй шов должен захватывать только мышечную часть желудка. При затягивании второго кисетного шва фистула немного погружается в полость желудка, а мышечная оболочка несколько поднимается вокруг трубки. Теперь второй шов затягивают, и он полностью закрывает первый, погружая его внутрь.

Для более быстрого слипания стенки желудка с пристеночной брюшиной на фистульную трубку надевают края большого сальника и желудок опускают в брюшную полость, придерживая его за конец фистульной трубки.

Фистулу вшивают в краниальный угол брюшной раны. Сначала непрерывным швом из тонкой лигатуры зашивают брюшину, частично захватывая мышцы с внутренней стороны или апоневроз. Края операционного разреза должны плотно прилегать к фистульной трубке. Кожу вместе с мышцами зашивают отдельными узловыми швами из толстых лигатур.

В первые сутки необходимо обеспечить плотное прилегание стенки желудка к стенке брюшной полости. Этого можно добиться следующим образом. На фистульную трубку наматывают марлевый тампон, который плотно охватывает ее и, находясь между наружным диском фистулы и кожей брюшной стенки, подтягивает желудок к брюшной стенке. Марлевый жгут снимают через сутки, чтобы предупредить некроз части мышечных волокон из-за ишемии.

После операции собаку не кормят в течение трех суток. На третьи сутки дают 100—400 мл теплой воды, на четвертые — еще столько же молока, разведенного пополам водой, на пятые — цельное молоко и воду, на шестые сутки добавляют 50—100 г белого хлеба, размоченного в молоке. В последующие дни количество еды увеличивают и прибавляют обычную пищу: мясную кашу, мелкие кусочки мяса.

**Оформление протокола опыта.** В протоколе кратко записывают содержание опыта. Приводят результаты определения резервной щелочности у интактной и оперированной собак. Делают выводы. Объясняют механизм нарушения кислотно-основного равновесия и называют вид этого нарушения.

**Опыт 3.** Нарушение кислотно-основного равновесия у коров (овцематок) при кетозе.

**Материальное оснащение.** Сдвоенные колбы по И. П. Кондрахину, подготовленные к титрованию (75); микробюретка на 2 мл (15); 0,02 н. раствора серной кислоты (0,01 моль/л) (50 мл); 1%-ный раствор фенолфталеина (10 мл).

**Постановка опыта.** За день до занятия в хозяйстве или стационаре клиники получают кровь от больных животных и подготавливают ее к исследованию диффузионным методом с помощью сдвоенных колб по И. П. Кондрахину (рис. 28).

В чистую сухую центрифужную пробирку помещают 1 мл вазелинового масла и 20 ЕД гепарина на 1 мл крови, 2—5 мл крови, взятой из яремной вены, вносят в подготовленную пробирку, закрывают ее пробкой и кровь осторожно перемешивают с антикоагулянтom. От каждого животного кровь берут в отдельную пробирку, на которой ставят номер. Пробирки доставляют в лабораторию, где их центрифугируют в течение 20 мин при  $3000 \text{ мин}^{-1}$  и помещают в холодильник при температуре  $4^\circ\text{C}$ . По количеству проб крови с учетом параллельных исследований подготавливают сдвоенные колбы. Для контроля оставляют не менее трех сдвоенных колб. Все колбы закрывают резиновыми пробками и открывают только в момент внесения реактива, после чего сразу опять закрывают. Точность результатов всей серии исследований зависит от точности титрования гидроокиси натрия в контрольных колбах.

На левых колбах всех пар ставят номера, соответствующие номерам проб крови на пробирках, или букву «К» на контрольных колбах. В правые колбы всех пар из бюретки вливают по 2 мл 0,02 н. (0,02 моль/л) раствора натрия гидроксида, в смежные (левые) колбы (кроме контрольных) вносят пипетками (не выдувая) по 0,5 мл плазмы крови, находящейся под вазелиновым маслом. Во всех случаях, когда реактивы вводят в колбы пипетками, их не выдувают, а дают свободно стекать. Затем во все левые колбы из бюретки или пипеткой поочередно вносят по 1 мл 5%-ного раствора серной кислоты (0,5 ммоль) и быстро плотно закрывают колбы пробками. Вращательными движениями перемешивают плазму крови с кислотой (не менее трех раз). Колбы оставляют на ночь. На следующий день приступают к титрованию.

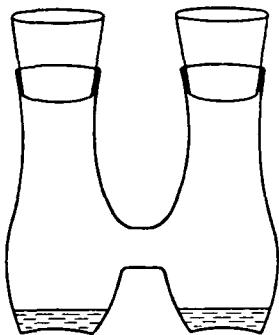


Рис. 28. Сдвоенные колбы по И. П. Кондрахину

Каждый студент получает 3—4 сдвоенные колбы, подготовленные для титрования в предыдущий день. Титруют содержимое правых колб, а обозначения (К — контроль, № животного) пишут на левых колбах. Все колбы должны быть плотно закрыты, их открывают только в момент внесения реактивов.

Поочередно титруют содержимое колб. Для этого открывают правую колбу с раствором натрия гидроксида и вносят в

нее 1—2 капли раствора фенолфталеина, затем из микробюретки на 2 мл, заполненной 0,01 моль/л (0,02 н.) раствором серной кислоты, титруют до полного обесцвечивания раствора. Скорость титрования контрольных и опытных проб должна быть одинаковой. Результаты титрования записывают в таблицу и рассчитывают резервную щелочность ( $X$ ) в объемных процентах  $\text{CO}_2$  на 100 мл плазмы крови по формуле

$$X = \frac{(Y_k - Y_n) 0,448}{Y_{\text{пл}}} 100, \text{ или } (Y_k - Y_n) 89,6,$$

где  $Y_k$  — количество 0,01 моль/л раствора серной кислоты, пошедшее на титрование контроля, мл;  $Y_n$  — количество 0,01 моль/л раствора серной кислоты, пошедшее на титрование исследуемого образца, мл;  $Y_{\text{пл}}$  — количество плазмы крови (в методике принято равным 0,5), мл; 0,448 — коэффициент данной реакции; 100 — коэффициент для пересчета результатов анализа на 100 мл плазмы крови.

**Оформление протокола опыта.** В протоколе кратко описывают ход работы. В таблицу 18 вносят результаты определения резервной щелочности крови животных с кетозом и неизвестной патологией. Сравнивают их с показателями нормальной особи.

В норме щелочной резерв у крупного рогатого скота — 46—66, у овец — 48—60 об. %  $\text{CO}_2$ .

#### 18. Результаты определения резервной щелочности крови животных с кетозом и неизвестной патологией

Вид патологии	Количество 0,02 н. раствора серной кислоты, пошедшее на титрование, мл		Об. % $\text{CO}_2$
	контрольные колбы	колбы с плазмой	

Норма

Кетоз

То же

Неизвестная патология

Делают выводы. Объясняют механизм нарушения кислотно-щелочного равновесия при кетозе. Называют вид нарушения.

**Опыт 4.** Изменение сердечной деятельности под влиянием адреналина на фоне экспериментального ацидоза.

**Материальное оснащение:** резиновые пластинки для фиксации лягушки (15); ножницы (15); хирургические пинцеты (15); анатомические пинцеты (15); серфины (15); рычажки Энгельмана (15); кимографы (15); шприцы на 1 мл с тонкими иглами (4); 0,5%-ный раствор молочной кислоты (20 мл); 0,1%-ный раствор адреналина (8 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушку обездвиживают разрушением спинного мозга без декапитации. Затем животное фиксируют в спинном положении, вскрывают грудную клетку, рассекают

сердечную сорочку и перерезают уздечку сердца. С помощью серфина и рычажка Энгельмана сердечные сокращения записывают на ленте кимографа. В полость желудочка шприцем с тонкой иглой вводят 0,2 мл 0,1%-ного раствора адреналина (1,1 мкмоль). Регистрируют изменения числа сердечных сокращений. Когда сердечная деятельность восстановится до исходной, в желудочек сердца вводят 0,5 мл 0,5%-ного раствора молочной кислоты и на этом фоне снова вводят 0,2 мл 0,1%-ного раствора адреналина. Продолжают изучать частоту сердечных сокращений и их амплитуду.

**Оформление протокола опыта.** В протоколе кратко описывают подготовку к опыту и его проведение. Зарисовывают кардиограмму с отметкой времени воздействия. Анализируют полученные результаты. Делают выводы.

**Задание 2.** Изучить механизмы регуляции и нарушения углеводного обмена, их проявления.

**Опыт 1.** Изменение содержания сахара в крови под влиянием инсулина у депанкреатизированной собаки.

**Материальное оснащение:** шприцы на 5 мл с иглами (4); цветочные шкалы для определения сахара (2); воронки с бумажными фильтрами (30); пробирки (90); набор реактивов для определения глюкозы в крови (1); раствор гепарина (5000 ЕД в 1 мл) (5 мл); инсулин (1 флакон); 2%-ный раствор пикриновой кислоты (50 мл); 10%-ный раствор натрия гидроксида (20 мл); подопытные животные: депанкреатизированные собаки (2), ложно оперированные собаки (2).

**Постановка опыта.** Опыт проводят на собаке, у которой за несколько дней до опыта удалили поджелудочную железу. Другую собаку подвергают ложной операции, т. е. такой же операции без удаления поджелудочной железы.

**Экстирпация поджелудочной железы у собаки.** Животное фиксируют в спинном положении. Наркотируют. Подготавливают операционное поле в области брюшной стенки. Делают разрез по средней линии живота длиной 10—15 см, отступив 2—3 см от мечевидного отростка. Края раны раздвигают и извлекают двенадцатиперстную кишку вместе с поджелудочной железой. Поджелудочную железу осторожно отделяют от двенадцатиперстной кишки тупым путем, пользуясь анатомическим пинцетом. Сосуды, идущие к поджелудочной железе, перевязывают и перерезают. Сосуды, питающие двенадцатиперстную кишку, сохраняют, так как их перерезка приводит к некрозу. Освободив правую долю железы от двенадцатиперстной кишки, от листков брюшины отделяют часть железы, которая лежит относительно свободно. Затем отпрепаровывают левую часть железы, которая лежит глубоко под желудком. В процессе отделения поджелудочной железы перевязывают ее большой и малый протоки. Необходимо полностью удалить поджелудочную железу, так как если останется хотя бы ее небольшая часть, то диабет может не развиваться. После удаления

мелких участков железы и остановки кровотечения рану зашивают. Через несколько часов появляется сахар в моче и его уровень в крови повышается. Однако максимума эти показатели достигают через несколько дней.

У депанкреатизированной и ложно оперированной собак берут по 2—3 мл крови из вены шприцем с иглой. Затем шприц с кровью отсоединяют от иглы, к которой присоединяют другой шприц с инсулином. Последний тотчас же вводят из расчета 3 ЕД на 1 кг массы тела животных. Через 50 мин у собак берут кровь повторно. В пробах крови, полученных до введения инсулина и через 50 мин после его инъекции, определяют содержание глюкозы. Результаты записывают в протокол.

*Определение сахара в крови (по С. А. Болен).* Готовят три пары пробирок: № 1 и 2, № 1а и 2а, № 1б и 2б.

В пробирки № 1 и 2 вносят дистиллированную воду: в пробирку № 1 — 1,8 мл, в пробирку № 2 — 1,9 мл. Затем микропипетками на 0,2 мл и 0,1 мл набирают кровь и выдувают ее: в пробирку № 1 — 0,2 мл, в пробирку № 2 — 0,1 мл. Микропипетки несколько раз промывают содержимым соответствующей пробирки таким образом, чтобы на внутренней поверхности не осталось следов крови. Затем в пробирки № 1 и 2 вливают 1 мл 2%-ного раствора (0,05 моль/л) пикриновой кислоты в каждую.

Содержимое пробирок № 1 и 2 взбалтывают и фильтруют в чистые, сухие, соответствующие пробирки № 1а и 2а через маленькие увлажненные дистиллированной водой фильтры. Пробирки ополаскивают дистиллированной водой, вливая в каждую по 1 мл и выливая на фильтр соответствующей пробирки.

Для определения сахара из каждой профильтрованной пробы пипетками берут по 2 мл фильтрата, который переносят из пробирки № 1а в пробирку № 1б, из пробирки № 2а в пробирку № 2б. В каждую из пробирок № 1б и 2б добавляют по 0,2 мл 10%-ного (2,5 моль/л) раствора натрия гидроксида. Пробирки помещают на 3 мин в кипящую водяную баню. После этого их охлаждают в проточной водопроводной воде, встряхивают и без промедления сравнивают цвет жидкости с окраской полосок на заранее приготовленной цветовой шкале.

Цвет	Содержание сахара, ммоль/л (мг%)
Желтый	5,55(100)
Светло-оранжевый	6,94(125)
Темно-оранжевый	8,35(150)
Оранжево-коричневый	11,1(200)
Коричневый с красным оттенком	13,9(250)
Темно-коричневый	16,7(300) и более

**Примечание.** Определение этим методом можно проводить только при дневном свете.

С помощью фотоэлектроколориметра можно более точно установить содержание глюкозы в крови.

*Определение глюкозы в крови по цветной реакции с ортотолуидином (ортотолуидиновый метод).* В реакции используют заводской набор химических реактивов. В пробирку наливают 0,9 мл 3%-ного раствора трихлоруксусной кислоты и выдувают в нее 0,1 мл свежей крови. Центрифугируют в течение 20 мин при 300 мин<sup>-1</sup>. В чистую пробирку вносят 0,5 мл центрифугата и добавляют 4,5 мл ортотолуидинового реактива. Пробирку помещают в кипящую водяную баню точно на 8 мин. Вода должна непрерывно кипеть. Затем пробирку вынимают и сразу охлаждают водопроводной водой до комнатной температуры. Оптическую плотность изменяют на ФЭКе при длине волны 590—650 нм (оранжевый или красный светофильтр) в кювете с толщиной слоя 1 см против холостой пробы (0,5 мл трихлоруксусной кислоты и 4,5 мл ортотолуидинового реактива).

Одновременно ставят калибровочную пробу: 0,5 мл раствора глюкозы с концентрацией 100 мг% и 4,5 мл ортотолуидинового реактива. Калибровочную пробу выдерживают в кипящей водяной бане вместе с опытной пробой.

Расчет концентрации глюкозы в пробе ( $C_{\text{оп}}$ , мг%) ведут по формуле

$$C_{\text{оп}} = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}} 100,$$

где  $E_{\text{оп}}$  — оптическая плотность пробы;  $E_{\text{ст}}$  — оптическая плотность калибровочной пробы (стандарт).

**Оформление протокола опыта.** Кратко описывают подготовку собак к опыту. Результаты определения уровня глюкозы в крови записывают в таблицу 19.

#### 19. Уровень глюкозы в крови у депанкреатизированной и ложно оперированной собак

Характер патологии	Содержание глюкозы в крови, ммоль/л	
	до введения инсулина	через 50 мин после введения инсулина

Экстирпация поджелудочной железы

Ложная операция

Анализируют полученные результаты и делают выводы. В заключение отмечают значение поджелудочной железы в регуляции уровня глюкозы в крови и роль инсулина в этой регуляции у больной и ложно оперированной собак.

**Опыт 2.** Состояние углеводного обмена у кролика при экспериментальном диабете, вызванном аллоксаном.

**Материальное оснащение:** микропипетки на 0,1 и 0,2 мл (16); набор реактивов для определения глюкозы с ортотолуидином (1); подопытные животные: интактный кролик (2), кролик, отравленный аллоксаном (2).

**Постановка опыта.** Опыт проводят на заранее подготовленном кролике. С этой целью животному натошак в ушную вену вводят аллоксан в дозе 150 ЕД на 1 кг массы тела в виде 5%-ного раствора (5 г аллоксана растворяют в 100 мл изотонического раствора натрия хлорида). Поражение бета-клеток поджелудочной железы, которые секретируют инсулин, происходит через 3—4 нед. Для опыта можно также использовать собак, которым вводят аллоксан в дозе 75—100 мг на 1 кг массы тела.

У интактного кролика и кролика, отравленного аллоксаном, сбривают шерсть на наружной поверхности ушной раковины в области краевой вены. Кожу протирают ваткой, смоченной спиртом. Затем концом лезвия для безопасной бритвы делают небольшой надрез стенки краевой вены уха и набирают в две микропипетки 0,2 и 0,1 мл крови для определения сахара по С. А. Болен или ортотолуидиновым методом.

Содержание сахара определяют также в моче, которую заранее собирают в приемники, помещенные под воронкообразное дно специальных клеток, где содержатся кролики, предназначенные для опыта. В первом случае в моче содержание глюкозы устанавливают ортотолуидиновым методом или методом индикаторных бумажек. Во втором случае в мочу опускают полоску фильтрованной бумаги, пропитанной специальным реактивом (глюкотест). При наличии сахара в моче бумага окрашивается в синий цвет, по интенсивности которого ориентировочно можно определить количество сахара в моче, сравнивая со стандартом, прилагаемым к набору. Можно воспользоваться и ортотолуидиновым методом, который описан выше.

**Оформление протокола опыта.** Кратко описывают подготовку кролика к опыту, отмечают результаты определения глюкозы в крови. Сравнивают уровень глюкозы у интактного и больного кроликов. Делают выводы. Объясняют роль поджелудочной железы и инсулина в регуляции углеводного обмена.

**Опыт 3.** Гипогликемия у кролика.

**Материальное оснащение:** шприцы на 2 мл с иглами (4); микропипетки на 0,1 и 0,2 мл (8); ФЭК (2); набор реактивов для определения глюкозы в биологических жидкостях ортотолуидиновым методом (1); инсулин (1 флакон); подопытные животные: интактные кролики (2).

**Постановка опыта.** Гипогликемию у кролика вызывают введением инсулина. Кролика перед занятием в течение суток содержат без корма, дачу воды не ограничивают. На ушной раковине выбривают шерсть, кожу протирают ваткой, смоченной спиртом. Из вены ушной раковины в микропипетки на 0,2 и 0,1 мл набирают кровь для определения уровня глюкозы (как в



предыдущем опыте). Затем в вену ушной раковины вводят инсулин из расчета 6 ЕД на 1 кг массы тела. При появлении признаков судорог повторно берут кровь для исследования на сахар.

За поведением кролика наблюдают до появления выраженного приступа судорог, который может продолжаться вплоть до его гибели. Животное можно спасти, если в вену ввести раствор глюкозы. Для этого готовят 20%-ный раствор (1,1 моль/л) глюкозы и вводят 5—6 мл в краевую вену уха. Когда глюкозу в вену ввести не удается, ее инъецируют под кожу, в брюшную полость в дозе, в несколько раз превышающей внутривенную.

**Оформление протокола опыта.** Кратко описывают подготовку к опыту и его проведение. Отмечают уровень глюкозы в крови до введения и после инъекции инсулина. Регистрируют поведение животного в динамике и изменения, наблюдаемые при введении глюкозы с лечебной целью. Делают выводы. Объясняют механизм инсулинового шока.

**Опыт 4.** Гипогликемическая кома у мыши.

**Материальное оснащение:** шприцы на 1 мл с иглами (4); инсулин (1 флакон); 10%-ный раствор глюкозы (10 мл); подопытные животные: мыши (8).

**Постановка опыта.** Гипогликемическую кому воспроизводят с помощью инсулина. Мышей перед опытом выдерживают сутки без корма. Дачу воды не ограничивают.

Подопытным мышам вводят инсулин под кожу по 0,25 ЕД на животное. Другой группе мышей одновременно с инсулином в брюшную полость вводят по 1 мл 10%-ного раствора (0,55 моль/л) глюкозы. Наблюдают за поведением животного.

**Оформление протокола опыта.** Кратко записывают условия опыта и подробно излагают изменения в поведении мышей. Сравнивают поведение мышей, которым вводили только инсулин, с поведением животных, которым кроме инсулина инъецировали также глюкозу. Делают выводы. Объясняют профилактическое действие глюкозы.

**Задание 3.** Изучить механизмы и последствия нарушений водного и электролитного обменов.

**Опыт 1.** Токсический отек легких у крыс.

**Материальное оснащение:** шприцы на 2 мл с иглами (2); 6%-ный раствор аммония хлорида (10 мл); изотонический раствор натрия хлорида (10 мл); подопытные животные: крысы (4).

**Постановка опыта.** Подбирают двух одинаковых или близких по массе тела крыс. Записывают в протокол массу тела, исходное состояние и поведение животных. После этого подопытной крысе под кожу или в брюшную полость вводят аммония хлорид из расчета 0,7 мл 6%-ного раствора на 100 г массы тела (8 ммоль/кг). Контрольной крысе таким же способом и в таком же объеме вводят изотонический раствор натрия хлорида. Отмечают

постепенное нарушение ритма и частоты дыхания. Наблюдения ведут в течение 40—50 мин. Если за это время подопытная крыса не погибнет, то обеих крыс умерщвляют электрическим током. Если одна из них погибает раньше чем за 40 мин, одновременно умерщвляют другую крысу.

У крыс вскрывают грудную клетку, отпрепаровывают легкие, накладывают лигатуру на их корень и экстирпируют. Затем осматривают легкие, определяют макроскопические изменения. После этого легкие подопытной и контрольной крыс отдельно взвешивают и вычисляют коэффициент отношения массы легких к массе тела животного в процентах (легочно-соматический коэффициент).

**Оформление протокола опыта.** Отмечают состояние и поведение крыс до опыта и в динамике после опыта, который хронометрируют. Особое внимание обращают на ритм и амплитуду дыхания. При вскрытии описывают картину и посмертно определяют легочно-соматический коэффициент. Делают выводы. Объясняют механизм развития отека.

**Опыт 2.** Влияние наркоза на развитие токсического отека легких у крыс.

**Материальное оснащение:** шприцы на 2 мл с иглами (2); 6%-ный раствор аммония хлорида (10 мл); 5%-ный раствор гексенала (5 мл); изотонический раствор натрия хлорида (10 мл); подопытные животные: крысы (4).

**Постановка опыта.** Опыт ставят для выяснения механизма развития отека, который наблюдали в предыдущем эксперименте.

Подбирают двух одинаковых или близких по массе тела крыс. Одну крысу наркотизируют уретаном или гексеналом. Доза уретана — 1—1,5 мл 10%-ного раствора на 100 г массы тела (11,2—16,8 ммоль/кг), доза гексенала — 0,2—0,3 мл 5%-ного раствора на 100 г массы тела (0,43—0,64 ммоль/кг). Один из этих препаратов вводят под кожу или внутривентриально. Другой крысе вводят такой же объем изотонического раствора натрия хлорида. После наступления глубокого сна у одной из крыс обоим животным одновременно вводят под кожу или внутривентриально 0,7 мл 6%-ного раствора аммония хлорида на 100 г массы тела (8 ммоль/кг). В течение 40—60 мин наблюдают за состоянием и поведением крыс. Особое внимание обращают на изменение дыхания. Затем обеих крыс одновременно усыпляют. Вскрывают грудные клетки, экстирпируют легкие. Последние взвешивают и вычисляют легочно-соматические коэффициенты отдельно для каждой крысы.

**Оформление протокола опыта.** Отмечают динамику поведения крыс в течение всего периода наблюдения, фиксируют особенности состояния каждой в отдельности. Затем описывают картину вскрытия и определяют легочно-соматический коэффициент у каждой крысы и сравнивают их значения. Делают

выводы. Объясняют значение наркоза для развития токсического отека легких.

### *Опыт 3. Адреналиновый отек легких у кролика.*

Материальное оснащение: шприцы на 5 мл с иглами (2); раствор адреналина 1 : 1000 (5 мл); секундомеры (2); подопытные животные: кролики (2).

**Постановка опыта.** Кролику в краевую вену уха или наружную яремную вену медленно вводят раствор адреналина (1 : 1000) в дозе 2 мл (11 мкмоль). Перед этим у животного определяют частоту пульса и дыхания. Наблюдение ведут в течение 10—15 мин, периодически подсчитывая число сердечных сокращений и частоту дыхания. После гибели кролика труп вскрывают. Обращают внимание на содержимое трахеи и бронхов. Легкие взвешивают и вычисляют легочно-соматический коэффициент, который у нормальных кроликов составляет 4,1—6,0 %.

**Оформление протокола опыта.** В хронологическом порядке (по минутно) фиксируют состояние животного и его изменения после введения адреналина с указанием числа сердечных сокращений и частоты дыхания. Описывают патологоанатомическую картину органов грудной полости: сердца, легких. Делают выводы. Объясняют механизм адреналинового отека и токсических отеков в целом.

### *Опыт 4. Отек кожи у кролика при гидремии.*

Материальное оснащение: шприцы на 20 мл с тонкими иглами (2); аппараты Боброва (2); стерильный изотонический раствор натрия хлорида (1 л); ножницы (2); кутиметры (2); подопытные животные: кролики (2).

**Постановка опыта.** Дежурные студенты фиксируют кролика на столе. Сбривают шерсть в области краевой вены ушной раковины и выбривают участок кожи в области брюшной стенки размером 4 × 6 см, отступив 1—2 см слева от белой линии живота. Подготавливают еще один участок кожи в области брюшной стенки (справа) для введения иглы, соединенной с аппаратом Боброва. Измеряют толщину кожной складки в области нижней стенки брюшной полости кутиметром в краниальной и каудальной частях кожи, с которой сбрита шерсть.

Шприцем в краевую вену уха вводят как можно больше изотонического раствора натрия хлорида (100—200 мл), с помощью аппарата Боброва этот же раствор вводят в брюшную полость (200—300 мл). Раствор натрия хлорида перед введением подогревают до 38 °С. После введения раствора кролика поворачивают на спину и смазывают 10%-ным спиртовым раствором йода кожу брюшной стенки слева в краниальной части на участке размером 2 × 3 см. Каждые 5 мин измеряют толщину складки кожи, смазанной раствором йода, и интактной этого же участка в течение 15 мин.

**Оформление протокола опыта.** Кратко описывают ход опыта. Отмечают толщину кожной складки краниальной

и каудальной частей брюшной стенки слева. Делают выводы об изменении толщины кожной складки, т.е. о развитии отека. Объясняют механизм развития отека и определяют его название по этиологической и патогенетической классификации.

**Опыт 5.** Влияние гипертонического раствора натрия хлорида на водный обмен лягушки.

**Материальное оснащение:** шприцы на 2 мл с иглами (15); электрические весы на 500 г (2); стеклянные банки на 500 мл (15); марлевые салфетки (15); 20%-ный раствор натрия хлорида (2 мл); подопытные животные: лягушки (30).

**Постановка опыта.** Подбирают двух лягушек с одинаковой или близкой массой тела. Подопытной лягушке к лапке привязывают лигатуру. Этой лягушке в лимфатический мешок (под кожу спины) вводят 2 мл 20%-ного раствора натрия хлорида, а контрольной — такой же объем изотонического раствора. Массу тела каждой лягушки отмечают в протоколе. Обеих лягушек помещают в стеклянную банку с водой. Через 40 мин их извлекают из банки, взвешивают каждую в отдельности и устанавливают изменение массы тела.

**Оформление протокола опыта.** Описывают схему постановки и ход опыта. Фиксируют массу тела подопытной и контрольной лягушек до и после введения растворов хлорида натрия. Делают выводы. Объясняют механизм развития отека в опыте.

**Опыт 6.** Влияние гиперсмолярной среды на обмен воды у лягушки.

**Материальное оснащение:** стеклянные банки на 500 мл (30); гипертонический 20%-ный раствор натрия хлорида (5 л); подопытные животные: лягушки (30).

**Постановка опыта.** Взвешивают двух лягушек, массу тела каждой записывают в протокол. Затем одну лягушку помещают в банку с 20%-ным раствором натрия хлорида, а другую лягушку — в банку с водой. Через час лягушек взвешивают снова.

**Оформление протокола опыта.** Отмечают массу тела лягушек до опыта и через час после опыта. Делают выводы.

**Опыт 7.** Развитие отека в зависимости от гидрофильности тканей.

**Материальное оснащение:** стеклянные банки на 500 мл (2); лигатура (толстый шелк); подопытные животные: лягушки (2).

**Постановка опыта (опыт Фишера).** У лягушки туго перевязывают одну из лапок в области коленного сустава. Лягушку помещают в банку с водой. Через сутки животное демонстрируют на занятиях. Обращают внимание на объем интактной лапки и сравнивают с объемом перевязанной лапки.

Оформление протокола опыта. Отмечают отличительные признаки перевязанной лапки от интактной. Объясняют механизм развития отека лапки по Фишеру.

*Опыт 8.* Набухание коллоидов в разных средах.

Материальное оснащение: торзионные весы (4); бактериологические пробирки (100); штативы для пробирок (25); желатин (10 г); раствор соляной кислоты (0,01 моль/л) (100 мл); раствор соляной кислоты (0,1 моль/л) (100 мл); раствор натрия или калия гидроксида (0,1 моль/л) (100 мл); дистиллированная вода (100 мл).

Постановка опыта. Эксперимент ставят для объяснения механизма развития отека по Фишеру. В четыре пробирки наливают по 2—3 мл разных жидкостей: в пробирку № 1 — дистиллированную воду, в пробирку № 2 — раствор соляной кислоты (0,01 моль/л), в пробирку № 3 — раствор соляной кислоты (0,1 моль/л), в пробирку № 4 — раствор натрия или калия гидроксида (0,1 моль/л).

В каждую пробирку помещают пластинку желатина (фибрина), которую предварительно взвешивают на торзионных весах. Через 15 и 30 мин содержимое пробирки выливают в стаканчик, обтянутый марлей. Пластинку желатина с марли переносят на фильтровальную бумагу, а затем взвешивают. В одних пробирках определяют степень набухания желатина через 15 мин, а в других — через 30 мин. Устанавливают индекс набухания делением массы желатина через 15 и 30 мин пребывания в жидкости на массу желатина перед помещением в жидкость. Индексы набухания для кислоты и основания сравнивают с таким же показателем для дистиллированной воды.

Оформление протокола опыта. Составляют таблицу 20, в которую записывают массу кусочков желатина перед и после пребывания в растворе. Вычисляют индекс набухания. Сравнивают набухание желатина в растворах с набуханием в воде и делают выводы.

**20. Вычисление индекса набухания кусочков желатина**

№ пробирки	Жидкость	Масса кусочков желатина, г			Индекс набухания
		до опыта	через 15 мин	через 30 мин	
1	Дистиллированная вода				
2	Раствор HCl (0,01 моль/л)				
3	Раствор HCl (0,1 моль/л)				
4	Раствор NaOH (KOH) (0,1 моль/л)				

*Опыт 9.* Влияние избытка ионов калия на сердечную деятельность.

Материальное оснащение: стеклянные стаканчики на 50 мл (15); резиновые пластинки для фиксации лягушки (15); раствор Рингера—Локка (300 мл); 1%-ный раствор калия хлорида (10 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушку обездвигивают разрушением спинного мозга. Фиксируют ее в спинном положении. Обнажают сердце, освобождают от перикарда и изолируют. Изолированное сердце помещают в раствор Рингера—Локка и, выждав несколько минут, подсчитывают число сокращений. Установив исходную деятельность изолированного сердца, в стаканчик вносят 5—10 капель 1%-ного раствора (0,14 моль/л) калия хлорида. Наблюдения продолжают до остановки деятельности сердца. Сокращение сердца можно восстановить, если отмыть его от калия хлорида раствором Рингера—Локка.

**Оформление протокола опыта.** Кратко описывают подготовку и ход опыта. По минутам отмечают частоту и силу сердечных сокращений после внесения в стаканчик калия хлорида. Делают выводы. Объясняют механизм влияния избытка ионов калия на сердечную деятельность.

**Опыт 10.** Влияние избытков ионов калия на возбудимость седалищного нерва лягушки.

Материальное оснащение: резиновые пластинки для фиксации лягушки (15); препаровальные иглы (5); ножницы (15); хирургические и анатомические пинцеты (30); электростимуляторы (2); 20%-ный раствор калия хлорида (10 мл).

**Постановка опыта.** Лягушку обездвигивают разрушением спинного мозга и фиксируют на резиновой пластинке в брюшном положении. Кожу правого и левого бедер разрезают в области границы между медиальной и средней третями. Мышцы раздвигают тупым путем и отыскивают правый и левый седалищные нервы. Нервы берут на лигатуры и как можно выше перерезают. На периферические концы нервов накладывают электроды от электростимулятора и определяют минимальную силу тока, вызывающую двигательную реакцию конечности. После этого на правый седалищный нерв наносят 5—6 капель 20%-ного (2,7 моль/л) раствора калия хлорида, на левый седалищный нерв — несколько капель изотонического раствора натрия хлорида. Затем в течение 30 мин снова определяют состояние возбудимости правого и левого седалищных нервов.

**Оформление протокола опыта.** Кратко описывают подготовку опыта и фиксируют результаты определения возбудимости седалищных нервов до и после нанесения на них раздражителей. Делают выводы о влиянии избытка ионов калия на возбудимость седалищного нерва. Объясняют механизм влияния избытка ионов калия.

## ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

1. Классификация нарушений кислотно-щелочного равновесия. 2. Компенсированные ацидозы и алкалозы. 3. Ацидоз (алкалоз) декомпенсированный. 4. Механизм развития газового ацидоза или алкалоза. 5. Патогенез обменного (негазового) ацидоза или алкалоза. 6. Причины нарушения обмена углеводов. 7. Нарушение переваримости углеводов в пищеварительном тракте. 8. Гипергликемия и ее виды. 9. Сахарный диабет. 10. Гипогликемический шок. 11. Клетки и ткани, наиболее чувствительные к недостатку сахара в крови. 12. Механизм развития эмоциональной гипергликемии. 13. Обезвоживание организма. 14. Патологические процессы в желудочно-кишечном тракте у молодняка сельскохозяйственных животных, сопровождающиеся обезвоживанием. 15. Отек и водянка. 16. Механизм развития токсических отеков. 17. Роль первичной задержки электролитов в развитии отека. 18. Состав транссудата и его отличие от экссудата. 19. Патогенез застойных, почечных и сердечных отеков. 20. Патолофизиологическое значение отека. 21. Гипокалиемия и гиперкалиемия. 22. Роль кальция в организме. 23. Нарушения минерального обмена при недостаточности паратиреоидных желез.

## ЗАДАЧИ

1. Мальчик в феврале принес в ветеринарную лечебницу двух голубей с одноптичным заболеванием. Птицы стояли, широко расставив ноги, опустив крылья, периодически возникали судороги с запрокидыванием головы. Мальчик рассказал, что в последнее время он кормил своих голубей рисом. Какое заболевание у голубей? Каким образом их вылечить, как профилактировать болезнь в будущем?

2. Во время диспансерного обследования стада коров выявили трех животных с клиническими признаками кетоза: они отказывались от концентрированных кормов, неохотно поедали сено, запоры сменялись поносами, был нарушен ритм жвачных периодов, ослаблена моторика рубца, снижена молочная продуктивность, хорошо выражена желтушность слизистых оболочек. При анализе крови были установлены резкая кетонемия и гипогликемия. Объясните механизм развития заболевания. Каковы меры профилактики первичного кетоза?

3. При лабораторном анализе крови, молока и мочи от высокопродуктивных коров был найден низкий уровень меди, цинка, кобальта, марганца и йода. Какие нарушения жизнедеятельности можно предположить у этих животных, если в рацион не будет введена соответствующая минеральная подкормка?

4. У высокопродуктивной коровы обнаружено повышение уровня кетоновых тел в крови до 12 мг%. Какие исследования потребуются для определения вида нарушений кислотно-щелочного равновесия?

5. У лошади в течение 3 дней для производственных нужд собрали 10—15 л желудочного сока. К какому нарушению кислотно-щелочного равновесия это может привести?

6. У теленка установлена изнуряющая диарея. Какое нарушение водно-солевого обмена может развиваться в этом случае?

7. У лошади с декомпенсированной недостаточностью трехстворчатого клапана сердца возник венозный застой и появились отеки в нижних участках тазовых и грудных конечностей, области живота и подгрудка. Как называют такие отеки и каков механизм их развития?

8. Действие на кожу ядовитых веществ, укусы насекомых, ядовитых змей приводят к развитию отека. Как называют такой отек, каков механизм его развития?

9. Собаке, страдающей сахарным диабетом, ошибочно ввели большую дозу инсулина. Развилась кома. Каковы ее механизмы и необходимое средство для излечения?

10. У лошади в моче обнаружена глюкоза. Какие исследования следует провести дополнительно для установления механизма глюкозурии?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Патогенетические аспекты первичного кетоза у коров.
2. Этиология и патогенез гиповитаминоза А у животных.
3. Последствия кобальтовой недостаточности у жвачных.

## ЛИТЕРАТУРА

Алиев А. А. Липидный обмен и продуктивность жвачных животных. — М.: Колос, 1980.

Антонов Б. И. Лабораторные исследования в ветеринарии. — М., 1991.

Гомеостаз/Под ред. П. Д. Горизонтова. — М.: Медицина, 1981.

Патология обмена веществ у высокопродуктивного крупного рогатого скота/Под ред. В. П. Шишкова. — М.: Колос, 1978.

Савойский А. Г. Нарушение углеводного обмена у сельскохозяйственных животных. — М.: МВА, 1986.

Фролов Б. А. Физиология и патология кислотно-основного обмена. — М.: Медицина, 1998.



---

## Р а з д е л III

# ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ОРГАНОВ И СИСТЕМ ЖИВОТНОГО ОРГАНИЗМА

---

### Т е м а 12

## ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ

**Цель занятий.** Изучить нарушения, возникающие в животном организме при изменении количества крови, количественного и качественного состава ее форменных элементов, гемопоэза.

**Задание 1.** Изучить последствия изменений общей массы крови у животных.

**Опыт 1.** Гиповолемиа у кролика.

**Материальное оснащение:** клетки для кроликов (4); кюветы (4); изогнутые ножницы (2); инъекционные иглы (2); стеклянные капилляры (26); микроцентрифуги (2); 70%-ный раствор этилового спирта (6 мл); эфир (6 мл); гепарин (5000 ЕД в 1 мл) (1,5 мл); подопытные животные: кролики (4).

**Постановка опыта.** Для проведения занятия с подгруппой студентов берут двух однополых кроликов массой более 2,5 кг. Одного из них за трое суток до опыта лишают воды и сочных кормов, содержат только на сухих кормах (сено, овес, комби-корма).

В часы занятий обоих кроликов помещают в деревянные решетчатые клетки. Выстригают шерсть над краевой веной уха. Кожу обезжиривают спиртом и эфиром. У одного, а затем у второго кролика инъекционной иглой прокалывают кожу и венозный сосуд. Выступающую каплю крови снимают ватой, последующую порцию крови используют для заполнения стеклянного капилляра. Стеклянные капилляры, предназначенные для определения величины гематокрита, перед употреблением должны быть вымыты, обезжирены, внутренние стенки обработаны гепарином, высушены.

Гематокритную величину определяют по одной из следующих методик.

1. Пипетку Панченкова предварительно промывают гепарином, высушивают, набирают в нее кровь до 100 мм, закрывают резиновым кольцом. Кольцо сначала слегка натягивают на кончик пипетки, а потом закрывают ее верхний конец. После этого пипетку помещают в гнездо центрифуги и центрифугируют в течение 10 мин при 5000—6000 мин<sup>-1</sup>. При центрифугировании вследствие разной удельной массы форменных элементов и плазмы в нижней части капиллярной трубки оседают эритроциты, в верх-

ней — плазма соломенно-желтого цвета. Этот метод прост и удобен в практической работе.

2. Для определения величины гематокрита используют ручную микроцентрифугу Шкляра.

В гнезда насадки вкладывают градуированные микропипетки, заполненные кровью. Для предупреждения ее просачивания в гнезда насадки вмонтированы резиновые прокладки. Насадку укрепляют на оси центрифуги. Вращают рукоятку в течение 7—9 мин со скоростью  $60-70 \text{ мин}^{-1}$  (насадка с капиллярами вращается со скоростью не менее чем  $7000 \text{ мин}^{-1}$ ). После центрифугирования отсчитывают деления с центрифугированными форменными элементами крови и определяют величину гематокрита.

3. Используют электрическую микроцентрифугу Шкляра (рис. 29) в соответствии с инструкцией. При работе с центрифугой запрещено следующее: работать без заземления корпуса прибора, пользоваться центрифугой с открытой крышкой, включать сразу большую скорость, открывать крышку до полной остановки электродвигателя.

4. Применяют эритровольтметр.

Расчет гематокритной величины проводят по формуле:

$$\frac{\text{высота столба эритроцитов}}{\text{высота всего столба крови}} \cdot 100 \text{ гематокрит, \%}. \text{ У кроликов она колеблется от 35 до 45.}$$

Согласно международной системе единиц (СИ) величина гематокрита выражается в литрах (объем эритроцитов) на 1 л крови (у кролика  $0,35-0,45 \text{ л/л}$ ).

Одним из перечисленных способов определяют и сопоставляют величины гематокрита у интактного, контрольного кроликов и кролика, которому в течение трех дней не давали воды.

Оформление протокола опыта. Записывают схему опыта и использованную методику определения гематокритной величины. Отмечают результаты исследования. Делают выводы о влиянии водного голодания на показатель гематокрита.

**Опыт 2.** Влияние гиперволемии на кровообращение в сосудах языка лягушки.

**Материальное оснащение:** препаровальные дощечки (15); булавки (105); кюветы (15); микроскопы стереоскопические (6); микроскопы обычные (9); шприцы на 5 мл с иглой (15); глазные пипетки (15); раствор Рингера для холоднокровных (100 мл); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); подопытные животные: лягушки (15).

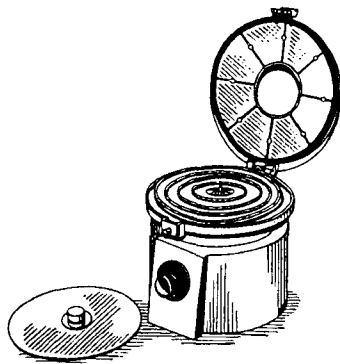


Рис. 29. Электрическая микроцентрифуга Шкляра

**П о с т а н о в к а   о п ы т а .** Лягушку наркотизируют алкоголем, помещают на препаровальную дощечку брюшком вверх. Булавками фиксируют верхнюю челюсть у края круглого отверстия и все четыре лапки. Иссекают кожу и грудную кость над областью сердца для лучшего доступа к сердечной мышце. Из ротовой полости осторожно извлекают язык, расправляют его над отверстием. Препарат кладут на предметный столик стереоскопического или обычного микроскопа. Изучают стереоскопическую и микроскопическую картину кровоснабжения ткани языка. В полость желудочка вводят 5—6 мл раствора Рингера и наблюдают за характером кровотока. Обращают внимание на скорость движения крови, число функционирующих сосудов, количество форменных элементов в осевом слое тока крови. Сопоставляют с исходным кровотоком.

**О ф о р м л е н и е   п р о т о к о л а   о п ы т а .** Записывают ход эксперимента. Отмечают изменения кровотока, возникшие после существенного увеличения объема циркулирующей крови.

**О п ы т   3 .** Влияние гетерогенной гемотрансфузии на организм кролика.

**М а т е р и а л ь н о е   о с н а щ е н и е :** клетки для кролика (2); кюветы (2); шприцы на 5 мл с иглой (2); электрокардиографы (2); предметные стекла (2); стеклянные палочки (2); изогнутые ножницы (2); кровь коровы (8 мл); 5%-ный лимоннокислый натрий (2 мл); 70%-ный раствор этилового спирта (10 мл); подопытные животные: кролики (2).

**П о с т а н о в к а   о п ы т а .** Кролика массой тела 1,8—2,5 кг помещают в деревянную клетку, ограничивающую движения. Над краевой веной уха выстригают шерсть, кожу протирают спиртом, сосуд прокалывают и набирают в пробирку 3—5 мл крови. После ее свертывания каплю сыворотки наносят на поверхность чистого предметного стекла, в которую добавляют небольшой объем гетерогенной крови, предназначенной для переливания. Сыворотку с кровью смешивают легкими касаниями стеклянной палочки. Спустя 3—5 мин обнаруживают склеивание эритроцитов, их агглютинацию.

На конечности животного накладывают электроды. Регистрируют исходную электрокардиограмму в трех стандартных отведениях. Визуально подсчитывают число дыхательных движений в 1 мин. После этого в краевую вену уха медленно вводят 3 мл гетерогенной крови, стабилизированной лимоннокислым натрием. Во время трансфузии, а также спустя 5—10—15 мин ведут запись электрокардиограммы и подсчитывают число дыхательных движений. Обращают внимание на общее состояние животного.

**О ф о р м л е н и е   п р о т о к о л а   о п ы т а .** Записывают определение несовместимости крови. В тетрадь клеивают электрокардиограммы, которые затем обрабатывают. Обобщают весь материал, полученный в ходе опыта. Делают вывод о влиянии гетеротрансфузии на организм реципиента.

**Задание 2.** В опытах на животных изучить изменения количественного и качественного состава эритроцитов.

**Опыт 1.** Моделирование и изучение гемолитической анемии у кроликов.

**Материальное оснащение:** клетки для кроликов (4); кюветы (4); шприцы на 5 мл с иглой (2); смесители для красной крови (15); микроскопы (15); камеры Горяева (15); электрофотоколориметры (2); стандартный набор для определения гемоглобина гемоглобинцианидным методом; гемометры Сали (15); аппараты Панченкова для определения СОЭ (2); вата (50 г); фильтровальная бумага (30 г); 5%-ный раствор фенилгидразина (20 мл); 70%-ный раствор этилового спирта (20 мл); 1%-ный раствор натрия хлорида (70 мл); 0,1 н. раствор хлористоводородной кислоты (5 мл); 5%-ный раствор лимоннокислого натрия (5 мл); подопытные животные: кролики (4).

**Постановка опыта.** На кролика массой тела более 2 кг действуют гемолитическим ядом — фенилгидразином, вызывающим тяжелую форму анемии. За четыре дня до занятий кролику в краевую вену уха в течение трех дней подряд вводят 1%-ный раствор фенилгидразина из расчета 1 мл на 1 кг массы тела. В день занятий измеряют ряд показателей красной крови у подопытного и контрольного кроликов.

Пробы периферической крови берут из сосудов уха, для чего выстригают шерсть, кожу протирают спиртом, после высыхания прокалывают краевую вену уха иглой, вытекающую кровь используют для анализов.

**Определение числа эритроцитов.** В абсолютно чистый и высушенный смеситель для красной крови набирают кровь до метки 0,5. Манипуляцию взятия проводят быстро. При этом следят, чтобы не попали пузырьки воздуха. После взятия крови кончик капилляра быстро вытирают ваткой или фильтровальной бумагой, погружают в сосуд с 1%-ным раствором натрия хлорида и набирают до метки 101. Смеситель закрывают с обоих концов большим и средним пальцами рук и осторожно встряхивают содержимое в течение 1—2 мин для получения равномерной взвеси эритроцитов. Получают разведение крови в 200 раз. Подсчет форменных элементов красной крови осуществляют в камере Горяева (рис. 30), которую предварительно покрывают шлифованным стеклом, притертым до появления радужных кругов (ньютонových колец). Из меланжера (смесителя) удаляют на ватку три первые капли содержимого, а затем одну капельку взвеси эритроцитов подводят под среднюю пластинку камеры, куда жидкость поступает в силу капиллярности. Между покровным стеклом и пластинкой не должно быть пузырьков воздуха.

Поверхность сетки разделена на большие и малые квадраты. Часть больших разделена на 16 малых квадратов, площадь каждого составляет  $1/400$  мм<sup>2</sup>, высота всех камер равна  $1/10$  мм. Таким образом, объем малого квадрата  $1/4000$  мм<sup>3</sup>. Подсчет клеток проводят под малым увеличением микроскопа в пяти больших квадра-

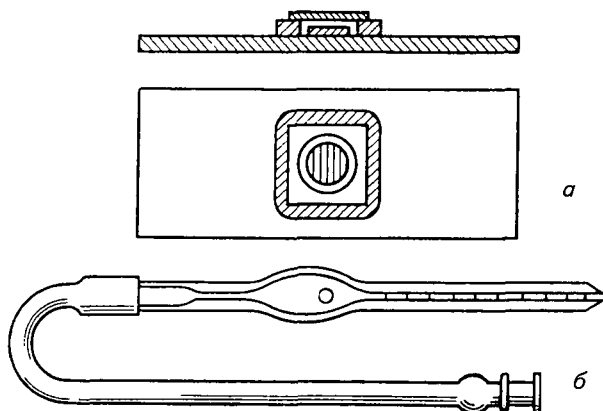


Рис. 30. Камера Горяева (а) и смеситель (б)

тах, начиная с левого маленького квадрата. Считают эритроциты, расположенные в каждом маленьком квадрате, и те, которые касаются левой и верхней стенок. Эритроциты, касающиеся правой и нижней стенок, не учитывают.

Для определения числа эритроцитов в 1 мкл крови ( $X$ ) используют формулу

$$X = \frac{A \cdot 4000 \cdot b}{B},$$

где  $A$  — число эритроцитов в пяти больших квадратах;  $b$  — степень разведения крови (1 : 200);  $B$  — количество маленьких квадратов в пяти больших (80); 4000 — 1/4000 объема счетной камеры над маленьким квадратом, мкл.

Для определения числа эритроцитов в 1 л крови ( $X$ ) используют формулу  $X = A \cdot 10^{10}$ . Получают величину Т/л, где  $T$  — тера, равна  $10^{12}$ .

**Определение количества гемоглобина.** Наиболее точен гемоглобинцианидный колориметрический метод. Для анализа берут опытную, стандартную и контрольную пробы. Для подготовки опытной пробы к 5 мл трансформирующего раствора добавляют 20 мкл (0,02 мл) испытуемой крови, тщательно перемешивают и оставляют стоять в течение 10 мин. Затем колориметрируют при зеленом светофильтре (длина волны 500—560 нм) в кювете с толщиной слоя 10 мм против контрольной пробы, в качестве которой берут трансформирующий раствор. Стандартная проба — это стандартный раствор гемоглобинцианида, ее исследуют в том же порядке, что и опытную пробу.

Количество гемоглобина ( $Hb$ , г на 100 мл) определяют по формуле

$$Hb = \frac{E_{\text{оп}} \cdot CK \cdot 0,001}{E_{\text{ст}}},$$

где  $E_{\text{оп}}$  — оптическая плотность опытной пробы;  $E_{\text{ст}}$  — оптическая плотность стандартной пробы;  $C$  — концентрация гемоглобинцианида в стандартном растворе (59,75 мг на 100 мл); 0,001 — коэффициент для пересчета мг в 1 г;  $K$  — коэффициент разведения крови (251).

Для установления количества гемоглобина в 1 л крови полученную цифру нужно умножить на 10.

Для определения количества гемоглобина в крови можно использовать метод Сали. Он менее точен, чем предыдущий, но прост в исполнении и широко распространен. Гемометр Сали (рис. 31) состоит из трех пробирок одного диаметра, помещенных в штатив, задняя стенка которого выполнена из стекла молочного цвета. Средняя пробирка пустая, она отградуирована и предназначена для исследуемой крови. Обе боковые пробирки запаяны и наполнены стандартным эталонным раствором, содержащим 167 г/л гемоглобина. К гемометру приложены капиллярная пипетка емкостью 20 мм<sup>3</sup>, пипетка для воды, стеклянная палочка для размешивания.

Принцип определения заключается в том, что под действием разведенной хлористоводородной (соляной) кислоты гемоглобин превращается в солянокислый гематин. Полученный раствор гематина разбавляют в градуированной (средней) пробирке дистиллированной водой до тех пор, пока его цвет не совпадет с цветом стандартных растворов. Количество гемоглобина устанавливают по уровню жидкости в градуированной пробирке в соответствии с имеющейся шкалой.

Для выполнения исследования в градуированную пробирку приливают 0,1 н. раствор хлористоводородной кислоты до метки 0. Из свежей капли крови кролика капиллярной пипеткой набирают 20 мкл. Оттуда кровь (без потерь) приливают к хлористоводородной кислоте в градуированной пробирке, тщательно перемешивают стеклянной палочкой. Полученную гемолизированную кровь оставляют стоять в штативе гемометра на 5—10 мин до образования прозрачной бурой жидкости — солянокислого гематина. Дистиллированную воду капают до тех пор, пока цвет жидкости не сравняется с цве-

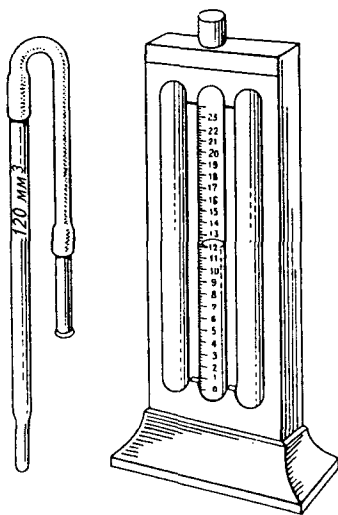


Рис. 31. Гемометр Сали с пипеткой

том стандартных растворов гемометра Сали. При этих условиях количество гемоглобина будет одинаковым в стандарте и в исследуемой крови. Отсчет ведут по нижнему мениску жидкости в градуированной пробирке, шкала которой показывает абсолютное содержание (г/100 мл) гемоглобина в исследуемой крови. Далее рассчитывают содержание гемоглобина в ммоль/л. Используют формулу

$$B \cdot 0,6206,$$

где  $B$  — количество гемоглобина (г/100 мл, г%), 0,6206 — коэффициент пересчета. Например,  $B = 9$  г%, тогда  $9 \cdot 0,6206 = 5,6$  ммоль/л (по системе СИ).

*Вычисление цветового показателя (ЦП).* Для определения степени насыщенности эритроцитов гемоглобином используют формулу

$$ЦП = \frac{Hb_2 E_1}{Hb_1 E_2},$$

где  $Hb_1$  — среднее количество гемоглобина в норме (г/л);  $Hb_2$  — количество гемоглобина у исследуемого животного (г/л);  $E_1$  — среднее число эритроцитов в норме ( $1 \cdot 10^{12}$ /л);  $E_2$  — среднее число эритроцитов у исследуемого животного ( $1 \cdot 10^{12}$ /л).

*Вычисление среднего содержания гемоглобина в одном эритроците.* Для определения этой величины используют данные о содержании эритроцитов и количестве гемоглобина в 1 мкл (1 л) крови. Для вычисления содержания гемоглобина в одном эритроците (СГЭ), выраженного в пг ( $1 \text{ пг} = 1 \cdot 10^{-12}$  г), применяют формулу

$$СГЭ = \frac{Hb}{Эр},$$

где  $Hb$  — количество гемоглобина в 1 мкл (1 л) крови, пг;  $Эр$  — число эритроцитов в 1 мкл (1 л) крови.

*Определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ) по методу Панченкова.* Вычисляют скорость разделения цельной крови на плазму светло-желтой окраски и форменные элементы красной окраски за счет гемоглобина эритроцитов. Для определения берут градуированный стеклянный капилляр (от 0 до 100 мл), промывают его 5%-ным раствором лимоннокислого натрия. Набирают раствор до метки  $P$  (высота 50 мм) и выпускают на часовое стекло. Из капли крови, взятой от кролика, в тот же капилляр дважды набирают кровь до метки  $K$  и приливают ее к раствору лимоннокислого натрия в часовое стекло, тщательно перемешивая жидкости. Затем капилляр наполняют цитратной кровью и укрепляют в штативе в строго вертикальном положении (рис. 32). Результат оседания эритроцитов отмечают через час. Выражают СОЭ в мм/ч.

Таким образом, у контрольного и интактного кроликов определяют содержание в крови числа эритроцитов, количество гемогло-

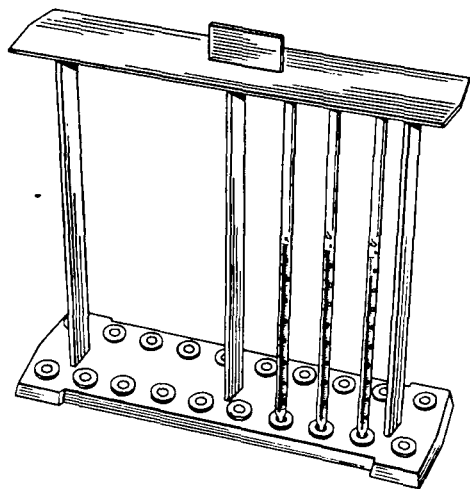


Рис. 32. Штатив и капилляры для определения СОЭ

бина, цветовой показатель, среднее содержание гемоглобина в одном эритроците, СОЭ. Используя полученные данные, составляют общую картину изменений красной крови при гемолитической анемии.

**Оформление протокола опыта.** Кратко описывают принципы определения показателей красной крови, использованные в эксперименте. Выполняют расчеты по рекомендованным формулам, фиксируют в протоколе. Полученные данные вносят в таблицу. Объясняют механизм изменений картины крови при гемолитической анемии.

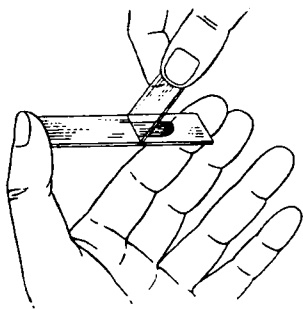
**Опыт 2.** Морфология эритроцитов у здоровых поросят и поросят-гипотрофики.

**Материальное оснащение:** микроскопы (15); термостаты (2); шлифованные стекла (30); предметные стекла (30); ножницы (2); пробирки (12); краска Романовского—Гимзы (100 мл); метиловый спирт (60 мл); гепарин (5000 ЕД в 1 мл) (1 мл); кедровое масло (10 мл); подопытные животные: здоровые поросята (6), поросята-гипотрофики (6).

**Постановка опыта.** В день занятий берут кровь от шести здоровых поросят (5-недельного возраста) и шести поросят-гипотрофики того же возраста, стабилизируют ее гепарином и используют для получения мазков с целью изучения морфологии эритроцитов. При этом учитывают, что поросята-гипотрофики с низким уровнем физиологической зрелости всегда страдают апластической анемией.

Из доставленных проб крови студенты изготавливают мазки. Для этого стеклянной палочкой каплю крови наносят на предметное





**Рис. 33. Приготовление мазка крови**

стекло, отступив на 1—1,5 см от его узкого края. Пальцами левой руки удерживают стекло за длинные ребра. В правую руку берут шлифованное стекло, подводят его к капле и ждут, когда кровь равномерно распределится по шлифу. Затем быстрым движением шлифованного стекла справа налево покрывают предметное стекло тонким равномерным слоем крови (рис. 33). Для получения хорошего мазка предметное стекло должно быть достаточно обезжирено, слегка подогрето, шлиф должен равномерно касаться его поверхности, масса крови должна быть равномерно распределена, без

перерывов и пустот. Полученный мазок высушивают на воздухе или в термостате (37 °С). Высушенный препарат погружают на 3—5 мин в метиловый спирт, окрашивают по Романовскому и вновь сушат.

Окрашенный мазок помещают под микроскоп для анализа элементов красной крови. Во время микроскопирования мазков обращают внимание на следующие изменения.

I. Наличие дегенеративных форм эритроцитов:

- 1) анизоцитоз характеризуется разной величиной элементов красной крови — наличием макро- и микроцитов;
- 2) пойкилоцитоз — изменения формы эритроцитов (звездчатые, овальные, грушевидные, серповидные);
- 3) анизохромия — появление слабоокрашенных (гипохромных) и сильноокрашенных (гиперхромных) эритроцитов;
- 4) эритроциты с кольцами Кебота;
- 5) эритроциты с тельцами Жолли.

II. Изменения количества клеток физиологической регенерации:

- 1) увеличение полихроматофильных эритроцитов (полихроматизация — множественность цветовой окраски);
- 2) увеличение числа ретикулоцитов (специальная суправитальная окраска);
- 3) появление нормобластов (нормобластоз).

III. Наличие клеток патологической регенерации:

- 1) мегалобласты оксифильные;
- 2) мегалобласты полихроматофильные;
- 3) мегалоциты.

Результаты, полученные при анализе крови, взятой от разных животных (здоровых и гипотрофиков) несколькими студентами, обобщают и обсуждают.

**Оформление протокола опыта.** Кратко описывают способ получения и окраски мазка крови. Зарисовывают найденные патологические формы эритроцитов. Сопоставляют

морфологическую картину элементов красной крови у здоровых поросят и поросят-гипотрофиков.

**Опыт 3.** Моделирование гемолитической анемии паразитарного происхождения у крыс.

**Материальное оснащение:** операционные столики для крыс (2); хирургические наборы (2); большие стеклянные воронки (2); микроскопы (15); камеры Горяева (15); смесители для красной крови (15); гемометры Сали (15); микроцентрифуги электрические (2); аппараты Панченкова (2); эфир для наркоза (30 мл); 70%-ный раствор этилового спирта (30 мл); 1%-ный раствор натрия хлорида (70 мл); 0,1 н. раствор хлористоводородной кислоты (15 мл); 5%-ный раствор лимоннокислого натрия (15 мл); подопытные животные: крысы (4).

**Постановка опыта.** За 7—10 дней до занятий студенты вместе с преподавателем проводят операцию по удалению селезенки у белой крысы. Для этого животное под эфирным наркозом фиксируют на столике брюшком вверх. Операцию проводят в стерильных условиях. Готовят операционное поле и по белой линии живота послойно рассекают брюшную стенку. Длина разреза не более 2 см. Через операционное отверстие проникают в брюшную полость, находят селезенку и осторожно извлекают ее, пользуясь анатомическим пинцетом. Перевязывают разволокненной шелковой нитью нервно-сосудистый пучок у основания органа, затем иссекают селезенку. На операционную рану послойно накладывают швы. Спленэктомированная крыса заболевает бартонеллезом. Бартонеллы внедряются в эритроциты, разрушают их. У животного на 7—10-й день после операции развивается гемолитическая анемия.

В день занятий для обследования берут здоровое животное (контрольное) и подопытное с гемолитической анемией. Кровь для гематологического анализа получают из кончика хвоста. Часть студентов подгруппы определяет содержание эритроцитов в крови, другие устанавливают количество гемоглобина, гематокритную величину, скорость оседания эритроцитов, цветовой показатель. Для изучения морфологических изменений элементов красной крови приготавливают мазки.

**Оформление протокола опыта.** Записывают условия проведения эксперимента и результаты собственных исследований. Объясняют патогенез гемолитической анемии паразитарного происхождения.

**Опыт 4.** Состояние гемостаза у кроликов при мегалобластной анемии.

**Материальное оснащение:** микроскопы (15); предметные стекла (15); покровные шлифованные стекла (15); стеклянные палочки (15); шприцы на 1 мл (2); пробирки (силиконизированные или парафинированные) (4); лейкоцитарные смесители (15); камеры Горяева (15); чашки Петри (15); секундомеры (2); капиллярные трубки (15); пробирки (15); фильтровальная бумага (20); 1%-ный раствор оксалата аммония (10 мл); 14%-ный раствор сернокислой магнeзии (10 мл); 0,1%-ный раствор акридина оранжевого (2 мл); метиловый спирт (40 мл); 0,9%-ный раствор натрия хлорида (1,2 л); краска Майя—Грюнвальда (30 мл); краска Романовского (30 мл); дистиллированная вода (1,5 мл); 1%-ный раствор трилона Б (1 мл).

**Постановка опыта.** Для изучения гемостаза берут двух взрослых однополых кроликов. Одному из них за пять дней до занятий ежедневно в ушную вену вводят раствор сапонины в возрастающей дозе, начиная с 1 мг и заканчивая 5 мг на 1 кг массы тела животного, растворяя его в 1 мл 0,9%-ного раствора натрия хлорида.

Кровь для исследований берут у интактного кролика и у кролика с экспериментальной мегалобластической анемией из сосудов уха. Изучают физико-химические свойства крови, используя различные тесты.

Существует более 20 способов подсчета кровяных пластинок, которые сводятся к определению их числа в окрашенном мазке в счетной камере и фазово-контрастной микроскопией.

**Метод Фонио.** Основан на предотвращении склеивания тромбоцитов добавлением к крови раствора сернокислой магнeзии и подсчете их в окрашенном мазке.

Для выполнения анализа волосы на ухе кролика на участке против краевой вены тщательно выстригают, кожу протирают спиртом и эфиром. На обезжиренную сухую кожу наносят 1—2 капли 14%-ного раствора сернокислой магнeзии. Для появления крови делают угол иглой через нанесенную жидкость. Обе жидкости перемешивают парафинированной палочкой и делают тонкий мазок на хорошо обезжиренном предметном стекле. Мазки высушивают на воздухе, окрашивают по Паппенгейму, для чего на нефиксированный мазок наносят неразведенный (фабричный) краситель Майя—Грюнвальда (2 мл), представляющий собой раствор эозина и метиленового синего в метиловом спирте. Спустя 3 мин к краске прибавляют 2 мл дистиллированной воды, смешивая их стеклянной палочкой или тонкой пипеткой. Через 1 мин, когда мазок приобретет розовый оттенок, краску сливают и, не высушивая, в течение 10—15 мин красят рабочим раствором краски Романовского, затем промывают дистиллированной водой и высушивают. Мазок изучают под иммерсионной системой микроскопа с помощью окуляра со счетным окошечком по Фонио. В каждом поле зрения считают сначала все эритроциты, а затем все тромбоциты. Передвигают препарат, меняя участки мазка до тех пор, пока не будет подсчитано 1000 эритроцитов и соответствующее количество кровяных пластинок. Исходя из общего числа эритроцитов в 1 л крови, с помощью составления пропорции рассчитывают количество тромбоцитов в том же объеме.

**Подсчет тромбоцитов под люминесцентным микроскопом.** Этим методом получают более четкие результаты. Согласно методике М. П. Яковлевой мазок, полученный по Фонио, после фиксации метиловым спиртом обрабатывают 3—4 мин раствором акридина оранжевого в разведении 1 : 1000 в изотоническом растворе натрия хлорида. Препарат покрывают покровным стеклом, избыток краски удаляют фильтровальной бумагой. Края покровного стекла за-

ливают жидким парафином для предотвращения высыхания. В поле зрения подсчитывают число эритроцитов и тромбоцитов по методу Фонио.

В тромбоцитах различают периферическую беззернистую часть — гиаломер и внутреннюю — грануломер, который содержит азурофильную зернистость. Существует четыре разновидности кровяных пластинок: юные тромбоциты, зрелые формы, старые и регенеративные формы. Последние не встречаются в обычных, физиологических, условиях. К ним относят гигантские пластинки, пластинки с большими отростками, очень мелкие пластинки, тромбоциты с очень крупной или пылевидной зернистостью. У здоровых кроликов число тромбоцитов составляет 125—250 Г/л ( $125-250 \cdot 10^9/\text{л}$ ).

*Определение тромбоцитов в счетной камере по методу Хауке.* В шприц на 1 мл набирают 0,5 мл 1%-ного раствора трилона Б и 0,5 мл крови и быстро переносят в силиконированную (парафинированную) пробирку, где ее можно хранить в течение нескольких часов до анализа. Для подсчета набирают кровь из пробирки в лейкоцитарный меланжер (смеситель) до метки I, затем набирают 1%-ный раствор оксалата аммония до метки II. Жидкости смешивают и меланжер оставляют на 20 мин для гемолиза эритроцитов. После этого хорошо перемешивают содержимое смесителя в течение 2—3 мин, первые капли выпускают и заряжают счетную камеру. Так как тромбоциты оседают медленно, камеру ставят на 10 мин в чашку Петри с мокрой ваткой на дне. После этого подсчитывают тромбоциты в пяти больших (80 маленьких) квадратах. Для вычисления количества кровяных пластинок ( $X$ ) в 1 л пользуются формулой

$$X = A \cdot 10^9,$$

где  $A$  — количество тромбоцитов, подсчитанное в пяти больших квадратах.

*Определение времени кровотоечения.* Подготавливают участок уха кролика в его средней трети: тщательно выстригают волос, кожу обрабатывают сначала спиртом, потом эфиром, высушивают. Целостность кожи капилляров и вену на ограниченном участке нарушают стерильным копьем длиной 4 мм. С момента появления крови включают секундомер. Самопроизвольно выделяющуюся кровь снимают полосками фильтровальной бумаги через каждые 15—20 с, не прикасаясь ею к раневому отверстию. Секундомер останавливают тогда, когда окончательно прекращается вытекание крови. По времени, прошедшему от начала до окончания выхода крови, определяют время кровотоечения. На этот показатель большое влияние оказывают количество тромбоцитов в крови и их качественная полноценность. Время кровотоечения у здоровых кроликов составляет 2—4 мин.

*Определение времени свертывания крови.* Используют наиболее простой капиллярный метод по Шульцу. Капиллярную трубку ди-

аметром 1 мм, длиной 15 см или специальный капилляр Шульца (рис. 34) подносят к выступающей капле и наполняют кровью. Кровь поднимается самотеком в силу капиллярности. Заполненный капилляр располагают таким образом, чтобы один конец был несколько выше другого. По секундомеру отмечают время начала анализа, т. е. момент заполнения капилляра кровью.

Через каждые последующие 30 с обрезают кусок капиллярной трубки длиной 1 см или отрезают одну бусинку капилляра Шульца и с помощью пинцета погружают в пробирку с изотоническим раствором натрия хлорида. При встряхивании пробирки первые пробы несвернувшейся крови смешиваются с жидкостью, окрашивая ее в красный цвет. Начало свертывания характеризуется более слабой окраской раствора, на дне пробирки обнаруживают свертки крови. О полном свертывании крови в капилляре свидетельствует отсутствие окраски изотонического раствора. Свернувшаяся кровь не вытекает из капиллярной трубки. Отмечают время конца свертывания.

Кроме состояния самой крови на скорость ее свертывания влияют также температура окружающей среды, количество крови, способы ее получения и определения, другие моменты. Поэтому в протоколе опыта необходимо очень точно указать условия эксперимента. У нормальных кроликов время свертывания крови составляет от 3 до 4,5 мин.

*Определение относительной плотности крови и плазмы.* Готовят серию растворов сульфата меди плотностью от 1,016 до 1,075. Для анализа используют как свежеполученную кровь, так и стабилизированную гепарином или трилоном Б. В пробирку с рабочим раствором глазной пипеткой с высоты 1 см опускают одну каплю крови или плазмы, которая погружается на глубину 2—3 см. Если относительная плотность капли больше плотности раствора — она тонет, если меньше — всплывает. Когда же относительная плотность крови или плазмы равна удельной плотности раствора, то капля остается во взвешенном состоянии, положение ее не меняется. Может быть и такое явление, когда в одном растворе капля всплывает, а в другом тонет, тогда относительную плотность устанавливают по среднему между ними показателю. Например, если при опускании капли крови в раствор с относительной плотностью 1,048 она всплывает, а в растворе с относительной плотностью 1,046 опускается на дно, то относительная плотность ее равна 1,047 кг/л.

**Задание 3.** В опытах на животных изучить изменения количественного и качественного состава лейкоцитов.

*Опыт 1.* Моделирование лейкоцитоза у кролика.

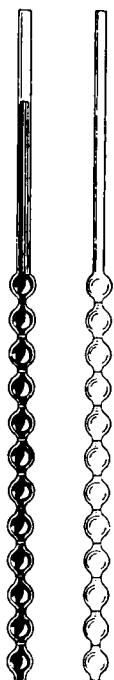


Рис. 34.  
Капилляр  
Шульца

Материальное оснащение: клетки для кроликов (4); кюветы (4); микроскопы (15); смесители для лейкоцитов (15); камеры Горяева (15); шприцы на 5 мл с иглой (2); предметные стекла (26); жидкость Тюрка (28 мл); кипяченое молоко (5 мл); краска Романовского (50 мл); 0,9%-ный раствор натрия хлорида (10 мл); 70%-ный раствор этилового спирта (20 мл); кедровое масло (3 мл); подопытные животные: кролики (4).

**Постановка опыта.** Берут двух однополых кроликов массой 1,8—2,5 кг, предварительно выдержанных 24 ч на голодной диете. Первому кролику в стерильных условиях внутрибрюшинно вводят 5 мл кипяченого молока, разведенного 1 : 1 изотоническим раствором натрия хлорида. Второму кролику в брюшную полость вводят 5 мл стерильного изотонического раствора. Спустя 45—60 мин проводят гематологическое обследование обоих кроликов: определяют число лейкоцитов, лейкограмму, лейкоцитарный профиль, индекс регенерации.

**Определение числа лейкоцитов.** Выстригают, обезжиривают, дезинфицируют край уха кролика. Прокалывают иглой кожу и стенку ушной боковой вены. Первые капли крови удаляют, из последующих капель насасывают кровь в смеситель (меланжер) для лейкоцитов до метки 0,5, вытирают кончик смесителя ваткой, опускают в стаканчик с жидкостью Тюрка (3%-ный раствор ледяной уксусной кислоты — 100 мл, 1%-ный раствор метиленового синего или генциана фиолетового — 1 мл) и насасывают до отметки 2. Покачивают смеситель в течение 2—3 мин. За это время уксусная кислота лизирует эритроциты и окрашиваются ядра лейкоцитов. Первые 2—3 капли из смесителя удаляют, четвертой заполняют подготовленную счетную камеру Горяева. Под малым увеличением подсчитывают все клетки, расположенные в 100 больших квадратах.

При подсчете числа лейкоцитов исходят из того, что разведение крови в смесителе 1 : 20, объем счетной камеры над маленьким квадратом 1/4000 мкл, а в одном большом квадрате сетки Горяева 16 маленьких, следовательно, объем над одним большим квадратом будет 16/4000 мкл, а над 100—1600/4000 мкл.

Например, в 100 больших квадратах найдено 154 лейкоцита, тогда в 1 мкл крови их будет

$$\frac{154 \cdot 4000 \cdot 20}{1600} = 154 \cdot 50 = 7700.$$

Для простоты расчетов число лейкоцитов, найденное в 100 больших квадратах, надо умножить на 50, чтобы получить их количество в 1 мкл крови.

Для определения числа лейкоцитов в 1 л крови ( $X$ ) используют формулу

$$X = A \cdot 5 \cdot 10^7,$$

где  $A$  — число лейкоцитов, найденных в 100 больших квадратах. Получают величину Г/л, где Г — гига, равна  $10^9$ .



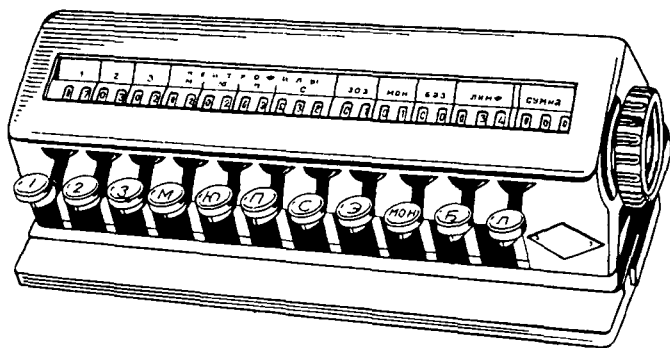


Рис. 36. Механический счетчик для определения лейкограмм

Патологически измененные формы эозинофилов отличаются от нормальных неравномерным распределением хроматина в ядре, его гиперсегментацией, наличием в цитоплазме овальных гранул или гранул, окрашенных в красно-фиолетовый цвет.

Патологические формы лимфоцитов характеризуются вакуолизацией протоплазмы, неравномерным окрашиванием ядер, разрыхленностью их субстанции.

Патологическим формам моноцитов свойственны диффузное серое, с желтоватым оттенком окрашивание протоплазмы, наличие в ней вакуолей, полиморфное разрыхленное ядро со слабоокрашенными или неокрашенными участками.

*Определение лейкоцитарного профиля.* Подсчитав число лейкоцитов в 1 мкл крови у контрольного и подопытного кроликов и зная процентное соотношение элементов белой крови (лейкоцитарная формула), высчитывают их абсолютное количество в заданном объеме. Например, у контрольного кролика в 1 мкл найдено 6500 лейкоцитов, лейкоцитарная формула выведена в следующем виде (%): Б — 1, Э — 2, П — 7, С — 36, Л — 52, М — 2. Принимая общее число лейкоцитов за 100 %, находим, что в 1 мкл крови базофилов будет 65, эозинофилов — 130, палочкоядерных нейтрофилов — 455, сегментоядерных нейтрофилов — 2340, лимфоцитов — 3380, моноцитов — 130.

*Определение индекса регенерации (ядерного сдвига).* Этот показатель представляет собой отношение суммы молодых форм нейтрофилов к зрелым. Вычисляют индекс по формуле

$$\frac{\%М + \%Ю + \%П}{\%С}.$$

По индексу регенерации можно судить о возрастном составе нейтрофилов. Увеличение этого показателя свидетельствует об активации миелопоэза, снижении его ингибции.



Изучив количественный и качественный состав элементов белой крови у здорового и подопытного кроликов, сопоставляют и анализируют полученные данные.

**О ф о р м л е н и е   п р о т о к о л а   о п ы т а .** Кратко записывают использованные методы гематологического обследования и полученные результаты. Объясняют механизм развития лейкоцитоза при экспериментальном асептическом перитоните. Делают выводы.

**О п ы т 2.** Моделирование лейкопении у кролика.

**М а т е р и а л ь н о е   о с н а щ е н и е :** клетки для кроликов (4); кюветы (4); микроскопы (15); предметные стекла (30); шлифованные стекла (30); камеры Горяева (15); смесители для лейкоцитов (15); шприцы на 5 мл с иглой (2); бензол (6 мл); изотонический раствор натрия хлорида (10 мл); подопытные животные: кролики (4).

**П о с т а н о в к а   о п ы т а .** Берут двух однополых кроликов массой более 2 кг. Одному кролику за 7—9 дней до занятий ежедневно в течение 6—7 дней подкожно вводят бензол из расчета 1 мл на 1 кг массы тела, второму — изотонический раствор натрия хлорида.

В день занятий обоих животных помещают в клетки, состригают шерсть напротив боковой вены уха, обезжиривают, протирают спиртом, прокалывают кожу и стенку сосуда. Первые капли снимают ваткой, последующие используют для определения числа лейкоцитов и взятия мазков. Количество лейкоцитов подсчитывают в камере Горяева. При микроскопировании окрашенных мазков выводят лейкограмму.

Бензольное отравление приводит к поражению костно-мозговой ткани, сопровождающемуся агранулоцитозом, тромбоцитопенией, снижением числа эритроцитов и содержания гемоглобина в крови.

Сопоставляя показатели белой крови, полученной от контрольного и подопытного кроликов, выявляют характер и степень отклонений от нормы, вызванных введением бензола в организм.

**О ф о р м л е н и е   п р о т о к о л а   о п ы т а .** Записывают способ моделирования лейкопении. Результаты проведенного исследования вносят в таблицу 21.

#### 21. Показатели белой крови у контрольного и подопытного кроликов

Показатели	Контрольный кролик	Подопытный кролик
Число лейкоцитов ( $1 \cdot 10^9/\text{л}$ )		
Базофилы, %		
Эозинофилы, %		
Нейтрофилы, %		
Миелоциты, %		
Метамиелоциты (ю), %		
Палочкоядерные, %		
Сегментоядерные, %		
Лимфоциты, %		
Моноциты, %		
Индекс регенерации		

Анализируют полученные данные. Делают выводы.

**Опыт 3.** Выведение и оценка лейкограмм у животных, больных лейкозом.

**Материальное оснащение:** микроскопы (15); мазки крови (15); иммерсионное масло (2 мл).

**Постановка опыта.** Студентам выдают подготовленные к микроскопированию мазки крови, полученной от животных разных видов, больных миелоидным или лимфоидным лейкозом в период развернутой клинической стадии болезни. Препараты просматривают под иммерсией, по четырехпольной системе. В мазках крови отыскивают и дифференцируют различные формы лейкоцитов. Регистрацию числа каждого вида клеток белой крови, обнаруженных при исследовании мазков, проводят на клавишном механическом счетчике.

Миелоидный лейкоз характеризуется пролиферацией красного костного мозга, селезенки, множественными экстрамедуллярными очагами кроветворения. В периферической крови преобладают миелобласты, промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты (юные). Миелобласты — крупные клетки с ядрами круглой формы, хроматин ядра представляет собой тонкую равномерную сеточку с мелкими узловатыми утолщениями. В ядре четко видны несколько ядрышек. Количество протоплазмы невелико, она базофильна, зернистость отсутствует. Промиелоциты — крупные клетки, протоплазма менее базофильна, чем у миелобласта, в ней появляется зернистость, ядрышки в ядре обнаруживают не всегда. Миелоцит — клетка с зернистой протоплазмой, зернистость крупная, эозинофильная, базофильная, нейтрофильная. Ядро круглое, ядрышки в нем отсутствуют. Метамиелоцит (юный) по сравнению с миелоцитом, промиелоцитом, миелобластом меньших размеров. Ядро компактное, почкообразное, с вдавливанием с одной стороны, что характерно для этой клетки. В протоплазме выражена эозинофильная или нейтрофильная зернистость.

Лимфоидный лейкоз отличается преимущественной пролиферацией лимфоидной ткани. Для его диагностики наряду с другими приемами используют гематологический метод, основанный на обнаружении существенного повышения в периферической крови числа слабодифференцированных лейкоцитов, преимущественно лимфоидного ряда. При выведении и анализе лейкоцитарной формулы обращают внимание на процентное соотношение отдельных форм лейкоцитов, степень их дифференцировки, появление в крови полиморфных, атипичных клеток кроветворных органов.

Проведя анализ мазков и получив лейкограммы, устанавливают, какой вид лейкоза был у больных животных.

**Оформление протокола опыта.** Записывают все данные о животном, от которого получен мазок крови для исследе-

дования. Результаты подсчета лейкоцитарной формулы вносят в таблицу. Определяют, какие нарушения кроветворения произошли у больного животного. Делают выводы о виде лейкоза.

## ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

1. Функции крови и возможные их нарушения. 2. Изменение объема циркулирующей крови. 3. Гемотрансфузионный шок. 4. Анемия. Определение понятия. 5. Классификация анемий по цветовому показателю. 6. Классификация анемий по патогенезу и функциональной активности миелоидной ткани и типу эритропоэза. 7. Железо- и белково-дефицитные анемии. 8. Анемии, вызванные дефицитом внешнего и внутреннего антианемического фактора. 9. Патологические формы эритроцитов. 10. Нарушения функций и компенсаторные механизмы при острой постгеморрагической анемии. 11. Зависимость эритропоэза от состояния микрофлоры рубца жвачных животных. 12. Лейкоцитоз. Определение понятия, виды. 13. Нейтрофильный лейкоцитоз. 14. Понятие о сдвиге ядра при нейтрофилии, его диагностическое значение. 15. Эозинофилия. 16. Лимфоцитоз. 17. Лейкопения. 18. Агранулоцитоз. 19. Лейкоз. 20. Этиология лейкозов (современные теории). 21. Этиология и патогенез лейкоза крупного рогатого скота. 22. Классификация лейкозов. 23. Микроскопическая картина периферической крови при острых лейкозах. 24. Состояние иммунологической реактивности при лейкозах. 25. Лейкемические реакции. 26. Тромбоцитопения и тромбоцитоз. 27. Замедление свертываемости крови. 28. Гиперкоагуляция крови, ее механизмы. 29. Гемолиз эритроцитов, его признаки и последствия. 30. Изменение скорости оседания эритроцитов (СОЭ). 31. Изменение биохимического состава крови. 32. Причины и последствия образования метгемоглобина и карбоксигемоглобина в крови сельскохозяйственных животных.

## ЗАДАЧИ

1. После тяжелых патологических родов с силовым извлечением плода из родовых путей у коровы появились следующие признаки: частота дыхания 51 в 1 мин, животное дышит тяжело, с открытым ртом, пульс 94 удара в 1 мин слабого наполнения, видимые слизистые оболочки бледные, температура тела 36,7 °C. Какой вид анемии развился у животного? Каков прогноз?

2. Лошадь в феврале разорвала небрежно хранившийся мешок с молотым нутрия хлоридом и съела несколько сот граммов его. Какие изменения состава крови возникнут у этого животного? Как их предупредить?

3. У 1,5-месячного теленка в течение 6 дней наблюдали диарею. Какой формой гиповолемии он страдает?

4. При диспансеризации стада коров у одного животного при гематологическом обследовании обнаружили следующую картину крови: содержание эритроцитов —  $5,4 \text{ Т/л}$  ( $5,4 \cdot 10^{12}/\text{л}$ ), гемоглобина —  $5,8 \text{ ммоль/л}$  (94 г/л); гематокрит — 0,38 л/л; СОЭ — 18,5 мм/24 ч; содержание лейкоцитов —  $216 \text{ Г/л}$  ( $216 \cdot 10^9/\text{л}$ ); лейкограмма: базофильных гранулоцитов — 0,5 %, эозинофильных гранулоцитов — 2,5, палочкоядерных нейтрофильных гранулоцитов — 3, сегментоядерных нейтрофильных гранулоцитов — 5,5, лимфоцитов — 87, моноцитов — 1,5 %. Какая патология системы крови у коровы?

5. В первой и второй стадиях лихорадки, индуцированной автоклавированной культурой стафилококка, число лейкоцитов у подопытной свиньи составляло  $2,7\text{--}3,4 \text{ Г/л}$  ( $2,7\text{--}3,4 \cdot 10^9/\text{л}$ ), а лейкограмма имела следующий вид: базофильных гранулоцитов — 0,5 %, эозинофильных гранулоцитов — 4,5, палочкоядерных нейтрофильных гранулоцитов — 2, сегментоядерных нейтрофильных гранулоцитов — 11,5, лимфоцитов — 75,5, моноцитов — 6 %. Как назвать обнаруженные изменения состава крови и как объяснить их механизм?

6. При гематологическом обследовании больной собаки в возрасте одного года (клинические признаки — плохой аппетит, вялость, истощение, повышенная утомляемость) была выведена следующая лейкоцитарная формула: базофильные гранулоциты — 0,5 %, эозинофильные гранулоциты — 12, палочкоядерные нейтрофильные гранулоциты — 4, сегментоядерные нейтрофильные гранулоциты — 44, лимфоциты — 36, моноциты — 3,5 %. Общее число: лейкоцитов —  $11,4 \text{ Г/л}$  ( $11,4 \cdot 10^9/\text{л}$ ), эритроцитов —  $4,7 \text{ Т/л}$  ( $4,7 \cdot 10^{12}/\text{л}$ ). Вычислить лейкоцитарный профиль, определить характер гематологических сдвигов, сделать предположение о причине нарушений системы крови.

7. Какие изменения находят в лейкограмме при остром гнойном воспалении и хроническом течении инфекционного процесса (туберкулез)?

8. В результате гематологического обследования лошади, находящейся на стационарном излечении по поводу ожоговой болезни, получены следующие результаты: содержание эритроцитов —  $7,2 \text{ Т/л}$ ; Нб —  $7,6 \text{ ммоль/л}$  ( $122 \text{ г/л}$ ); цветовой показатель — 1,1; гематокрит —  $0,41 \text{ л/л}$ ; содержание лейкоцитов —  $13,1 \text{ Г/л}$ ; лейкограмма: базофильные гранулоциты — 0 %, эозинофильные гранулоциты — 3, миелоциты — 2, метамиелоциты (юные) — 2, палочкоядерные нейтрофильные гранулоциты — 7, сегментоядерные нейтрофильные гранулоциты — 56, лимфоциты — 22, моноциты — 8 %. О чем свидетельствуют данные этого обследования?

9. При выборочном гематологическом обследовании стада коров по поводу снижения удоев при даче рациона с большим количеством силоса и концентратов, но малом количестве сена результаты анализа крови были следующими: содержание лейкоцитов —  $6,8\text{--}7,7 \text{ Г/л}$ , эритроцитов —  $3,2\text{--}4,7 \text{ Т/л}$ ; гемоглобина —  $4,2\text{--}4,6 \text{ ммоль/л}$  ( $67\text{--}74 \text{ г/л}$ ); СОЭ —  $0,5\text{--}0,7 \text{ мм/ч}$ ; цветовой показатель —  $1,3\text{--}1,6$ . При микроскопировании мазков обнаруживали гиперхромные эритроциты, мегалобласты, пойкилоциты, мегалоциты с тельцами Жолли. Какая патология системы крови у стада коров? Каковы вероятные причины и генез ее возникновения?

10. В ветеринарную лечебницу доставлена корова с признаками гемоглобинурии. Какую патологию крови можно предполагать у больного животного? Как убедиться в правомерности предположения?

11. У лошади глубокая колотая рана, осложненная гнойной кокковой инфекцией. Какие изменения могут быть обнаружены в лейкограмме при гематологическом обследовании больного животного?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Этиология и патогенез лейкоза крупного рогатого скота.
2. Этиология и патогенез железодефицитных анемий у животных разных видов.
3. Роль антианемического вещества (фактора Касла) в патогенезе анемий.

## ЛИТЕРАТУРА

Карпуть И. М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных. — Минск: Ураджай, 1986.

Кудрявцев А. А., Кудрявцева Л. А. Клиническая гематология животных. — М.: Колос, 1974.

Лейкозы и злокачественные опухоли животных/Под ред. В. П. Шишкова, Л. Г. Бурбы. — М.: Агропромиздат, 1988.

Леонова Е. В. Патологическая физиология системы крови. — Минск: Ураджай, 1988.

Нахмансон В. М. Лейкоз крупного рогатого скота. — М.: Россельхозиздат, 1986.

Проблемы лейкоза животных/Под ред. П. Н. Смирнова. — Новосибирск, 1992.

Симонян Г. А., Хисамутдинов В. В. Ветеринарная гематология. — М.: Колос, 1995.

## Тема 13

### ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ СИСТЕМЫ КРОВООБРАЩЕНИЯ

**Цель занятий.** Изучить недостаточность кровообращения сердечного и сосудистого происхождения.

**Задание 1.** Изучить недостаточность кровообращения сердечного происхождения на подопытных животных.

**Опыт 1.** Моделирование инфаркта миокарда у кроликов.

**Материальное оснащение:** операционные столы для кроликов (2); электрокардиографы (2); хирургические наборы (2); шприцы на 5 мл с иглой (2); шелковые нити (1,5 м); 0,25%-ный раствор новокаина (50 мл); 0,9%-ный раствор натрия хлорида (80 мл); 5%-ный спиртовой раствор йода (10 мл); подопытные животные: кролики (2).

**Постановка опыта.** Берут крупного кролика массой не менее 2,5 кг и фиксируют брюшком вверх на операционном столе. Под кожу конечностей вкалывают игольчатые электроды и снимают электрокардиограммы в трех отведениях. Готовят поле операции в области средней трети грудной клетки. Вдоль белой линии проводят инфильтрационную анестезию 0,25%-ным раствором новокаина. В асептических условиях скальпелем разрезают кожу и на уровне 4—5-го ребер по срединной линии рассекают грудную кость. Осторожно расширяют рану, вскрывают перикард и обеспечивают хороший доступ к передней поверхности сердца. У кроликов транстернальный подход к сердечной мышце не сопровождается пневмотораксом. При небольшом навыке он легко выполним. После обнажения сердца с помощью атрауматической иглы проводят нить под левую нисходящую ветвь левой венечной артерии. Операционную рану прикрывают марлевой салфеткой, смоченной физиологическим раствором. Включают кардиограф и снимают электрокардиограмму. Сосуд перевязывают концами подведенной нити. Узловые швы сначала накладывают на грудную кость, затем, используя разволоконенную шелковую нить, непрерывным швом закрывают кожную рану. Не снимая кролика со стола, вновь 4—5 раз регистрируют электрокардиограммы в трех отведениях с 2-минутным интервалом.

Обрабатывают электрокардиограммы. Сравнивают исходные показатели с полученными после перевязки коронарного сосуда. С этой целью измеряют величину (мВ) зубцов P, Q, R, S, T, их форму, направление, определяют длительность (с) сердечного цикла P—P и его составляющих: интервала P—Q (начало зубца P — начало зубца Q), интервала Q—T (начало зубца Q — окончание зубца T), интервала T—P (окончание зубца T — начало зубца P).

Особое внимание уделяют признакам, свойственным инфаркту миокарда: смещению вверх интервала S—T, инверсии зубца T, появлению «коронарного» зубца T.

**Оформление протокола опыта.** Кратко записывают порядок проведения операции по моделированию инфаркта миокарда у кролика. В тетрадь вклеивают и обрабатывают электрокардиограммы. Отмечают отличия электрокардиографической кривой оперированного животного от таковой у нормального. Делают выводы.

## **Опыт 2. Моделирование инфаркта миокарда у лягушки.**

**Материальное оснащение:** электрокардиографы (2); препаровальные дощечки (2); булавки (24); глазные ножницы (2); изогнутый (зубной) пинцет (2); кристаллы азотнокислого серебра (2); раствор Рингера для холоднокровных (50 мл); 10%-ный раствор этилового спирта (150 мл); 1%-ный раствор калия хлорида (1 мл); подопытные животные: лягушки (4).

**Постановка опыта.** Двух лягушек, наркотизированных этанолом, закрепляют брюшком вверх на препаровальных дощечках. У обоих животных иссекают кожу над грудной костью, часть ее удаляют и обнажают перикард. Вскрыв сердечную сорочку, осторожно выводят сердце наружу. К четырем конечностям одной из лягушек подводят игольчатые электроды от электрокардиографа в соответствии со стандартной схемой отведений. Регистрируют исходную электрокардиограмму в трех отведениях. Затем на переднюю стенку желудочка накладывают кристаллик азотнокислого серебра, вызывающего ограниченный некроз сердечной мышцы. Спустя 3—5 мин вновь записывают и анализируют электрокардиограмму в трех отведениях. Обращают внимание на частоту сердечных сокращений, особо отмечают подъем интервала S—T относительно изоэлектрической линии, другие патологические изменения.

После относительной стабилизации электрокардиограммы на сердце наносят 2—3 капли раствора адреналина (1 : 1000) и вновь регистрируют биопотенциалы сердца.

Для расшифровки механизма зарождения коронарной волны (подъем интервала S—T на электрокардиограмме при очаговом некрозе миокарда) опыт продолжают на второй лягушке. У нее снимают исходные показатели в первом, втором и третьем отведениях. На переднюю поверхность (левую половину) желудочка накладывают комочек ваты, смоченной 1%-ным раствором калия хлорида. Через 3—5 мин снова несколько раз регистрируют биопотенциалы сердца и во всех случаях отмечают появление коронарной волны.

После получения эффекта вату убирают, поверхность сердца отмывают раствором Рингера. Затем на то же место миокарда накладывают ватку, пропитанную 1%-ным раствором калия хлорида. Вновь регистрируют электрокардиограмму (коронарная волна отсутствует).

**Оформление протокола опыта.** Записывают условия и последовательность проведения эксперимента. В тетрадь

вклеивают электрокардиограммы и анализируют их. Отмечают специфику изменений кардиоэлектрического поля при очаговом инфаркте передней стенки желудочка, сопоставляют их с влиянием хлорида калия на миокард. Делают выводы.

*Опыт 3.* Моделирование аритмии сердца у овец путем раздражения рецепторов верхних дыхательных путей.

**Материальное оснащение:** электрокардиографы (2); павловские станки (2); стеклянные палочки (2); мыльная паста (1 тюбик); вата (15 г); нашатырный спирт (10%-ный раствор аммиака) (30 мл); бензол (30 мл); эфир (30 мл); хлороформ (30 мл); 10%-ный раствор натрия хлорида (100 мл); подопытные животные: овцы (2).

**Постановка опыта.** Овцу ставят в павловский станок, предварительно адаптировав к условиям опыта. Накладывают электроды для снятия электрокардиограммы в трех туловищных сагиттальных отведениях по М. П. Рощевскому. Первое отведение: краниальная часть грудной кости — средняя точка линии, соединяющей каудальные углы правой и левой лопаток. Второе отведение: краниальная часть грудной кости — точка пересечения перпендикуляра, опущенного от 13-го грудного позвонка, с белой линией живота. Третье отведение: средняя точка линии, соединяющей каудальные углы правой и левой лопаток, — точка пересечения перпендикуляра, опущенного от 13-го грудного позвонка, с белой линией живота. Соответственно сагиттальным системам отведений первый электрод с красным наконечником закрепляют на коже в области краниальной части грудной кости; второй электрод с желтым наконечником помещают на коже холки в области середины линии, соединяющей задние углы лопаток; третий электрод с зеленым наконечником фиксируют на коже в точке пересечения белой линии живота с перпендикуляром, опущенным от 13-го грудного позвонка.

Сагиттальные отведения электрокардиограмм в наибольшей степени отвечают концепции равностороннего треугольника Эйнтговена. Стабильность форм и большой вольтаж зубцов электрокардиограмм, снятых в сагиттальных отведениях (рис. 37), свидетельствуют об их преимуществах перед отведениями от конечностей.

В качестве электродов используют металлические бельевые прищепки. Для максимального уменьшения сопротивления между электродом и кожей животного шерстный покров выстригают, кожу с остатками волоса обильно смачивают мыльным раствором, а между электродом и кожей размещают марлю, увлажненную 10%-ным раствором натрия хлорида.

Подготовив животное, приступают к опыту. Регистрируют исходную электрокардиограмму в трех сагиттальных отведениях. На фоне регистрации к ноздрям животного подносят ватный тампон, пропитанный нашатырным спиртом. Визуально наблюдают влия-

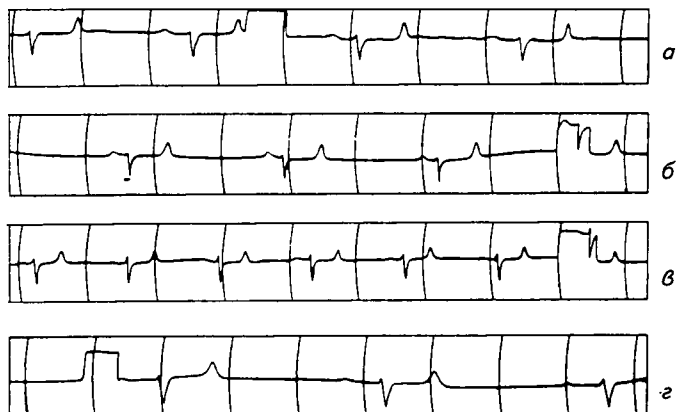


Рис. 37. Электрокардиограммы коровы (а), овцы (б), свиньи (в), лошади (г) в третьем сагитальном отведении

ние раздражения рецепторов верхних дыхательных путей на сердечную деятельность. Повторно снимают кардиограммы через 3 и 6 мин.

После восстановления сердечной деятельности к ноздрям животного поочередно с соблюдением тех же принципов постановки опыта, что и в предыдущем случае, подносят тампоны, смоченные эфиром, хлороформом, бензолом. В завершение опыта в качестве раздражителя рефлексогенных зон дыхательных путей можно применять табачный (сигаретный) дым.

При обработке электрокардиограмм обращают внимание на величину основных зубцов: Р, S, Т. У здоровых взрослых овец основная форма электрокардиографической кривой представлена низковольтным положительным зубцом Р, небольшим положительным зубцом R, глубоким отрицательным зубцом S и довольно высоким положительным зубцом Т (PRS + Т). Подсчитывают среднюю величину сердечного цикла (с), затем частоту сердечных сокращений в 1 мин. В циклах, соответствующих средней величине, с помощью специальной линейки определяют продолжительность интервалов Р—Q, Q—Т, Т—Р.

Для объективной оценки реакции сердца, развивающейся при раздражении рецепторов дыхательных путей, используют такой показатель, как коэффициент аритмии. У каждого животного в состоянии относительного физиологического покоя и адаптации к окружающим условиям длительность сердечных циклов неодинакова. При патологии разница существенно возрастает.

Коэффициент аритмии ( $K_a$ , %) вычисляют по формуле (М. П. Рошевский, 1960):



$$K_a = \frac{(P-P,c)_{\max}}{(P-P,c)_{\min}} 100 - 100.$$

Например, при анализе электрокардиограммы, снятой у овцы в состоянии физиологического покоя, была определена продолжительность восьми сердечных циклов. Максимальная продолжительность составила 1,03 с, а минимальная — 0,96 с. Расчет в данном случае будет следующим:

$$K_a = \frac{1,03}{0,96} 100 - 100 = 7,3\%.$$

При сохраненном синусовом ритме коэффициент аритмии в условиях необычных висцеро-висцеральных рефлексов существенно изменяется.

**Оформление протокола опыта.** Записывают ход опыта. В тетрадь вклеивают электрокардиограммы, которые затем обрабатывают. Данные вносят в таблицу 22.

## 22. Изменения сердечной деятельности у овцы при раздражении рецепторов верхних дыхательных путей различными веществами

Раздражительность	Зубцы, мВ			Интервалы, с				ЧСС	K <sub>a</sub> , %
	P	S	T	P-Q	P-Q	Q-T	T-P		

Исходное состояние

Нашатырный спирт

Эфир

Хлороформ

Бензол

Дым табака

Анализируют результаты эксперимента. Отмечают возможные механизмы передачи раздражения с дыхательных путей на сердце.

**Опыт 4.** Влияние гиперкалиемии на биоэлектрическую активность сердца крысы.

**Материальное оснащение:** электрокардиографы (2); кюветы (2); шприцы на 2 мл с иглой (2); 20%-ный раствор уретана (3 мл); 6%-ный раствор калия хлорида (2,5 мл); подопытные животные: крысы (2).

**Постановка опыта.** Крысе массой 200—250 г подкожно вводят 1—1,25 мл 20%-ного раствора уретана или другого наркотика. Наркотизированное животное кладут в сухую эмалированную кювету. На конечности после увлажнения их мыльным раствором помещают электроды (электротехнические зажимы) от электрокардиографа по стандартной схеме. После стабилизации деятельности сердца записывают исходную электрокардиограмму в трех отведениях. Внутривенно вводят 2,5 мл 6%-ного ра-

створа калия хлорида. Показатели состояния кардиоэлектрического поля регистрируют тотчас после введения препарата, а в последующем — через каждые 3 мин после инъекции. Обрабатывают электрокардиограммы. Обнаруживают выраженную брадикардию и другие патологические признаки (рис. 38).

**Оформление протокола опыта.** Записывают последовательность проведения эксперимента. В тетрадь вклеивают электрокардиографические кривые и анализируют их. Полученные данные вносят в таблицу 23.

### 23. Биоэлектрическая активность сердца крысы при гиперкалиемии

Время регистрации ЭКГ	ЧСС	Длительность интервалов, с				Вольтаж зубцов, мВ			K <sub>a</sub> , %
		P—P	P—Q	Q—T	T—P	P	R	T	

Исходное состояние

Через 1 мин

Через 3 мин

Через 6 мин

Через 9 мин

Обобщают результаты опыта. Делают выводы.

**Опыт 5.** Моделирование тампонады сердца у кошки.

**Материальное оснащение:** электрокимографы с удлинителем (2); ртутные манометры (2); электроотметчики времени (2); электрокардиографы (2); трехходовые стеклянные трахеотубусы (2); аппараты для искусственного дыхания (ДП-2) (2); хирургические наборы (2); перикардальные канюли (2); капсулы Марея (2); зажимы Дифенбаха (2); шелковые нитки (1 моток); марлевые салфетки

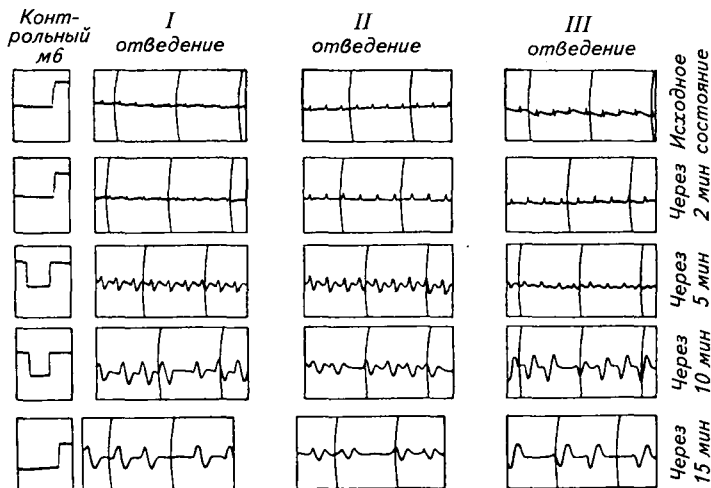


Рис. 38. Изменения электрокардиограммы крысы после внутривенного введения раствора калия хлорида

(4); сосудистые полиэтиленовые канюли (2); шприцы на 20 мл с иглой (2); операционные столики для кошек (2); вата (15 г); 0,9%-ный раствор натрия хлорида (300 мл); 20%-ный раствор уретана (50 мл); раствор гепарина (5000 ЕД в 1 мл) (3 мл); подопытные животные: кошки (2).

**П о с т а н о в к а   о п ы т а .** Подбирают взрослую кошку массой 2 кг и более. Вечером, накануне дня занятий, ей вводят внутрибрюшинно 20%-ный раствор уретана из расчета 6 мл на 1 кг массы тела. Наркотизированное животное фиксируют на операционном столике. На шее и левой половине грудной клетки на уровне 2—3-го ребра готовят поле операции. Разрезав кожу по средней линии шеи, тупым путем обнажают трахею, через надрез в нее вставляют и фиксируют трехходовой стеклянный трахеотубус. Отпрепаровывают сонную артерию, через боковой разрез вводят в нее полиэтиленовую сосудистую канюлю соответствующего диаметра. Стенку сосуда вокруг канюли перевязывают не менее двух раз. Канюлю наполняют изотоническим раствором натрия хлорида с гепарином и присоединяют к ртутному манометру. К трахеотубусу подключают аппарат искусственного дыхания (ДП-2). Слева между вторым и третьим ребрами разрезают кожу. На оба эти ребра, ближе к грудной кости, накладывают по две лигатуры, которые крепко завязывают для предупреждения кровотечения из межреберных артерий. Между лигатурами резецируют часть ребер. Обнажают перикард, тонкой шелковой нитью на околосоердечную сумку, ближе к верхушке сердца, накладывают кисетный шов, в центре которого делают небольшой разрез, куда вводят расширенный конец двухходовой перикардиальной канюли. Одну ее ветвь соединяют системой трубок с капсулой Маррея для регистрации сокращений сердца, на вторую надевают резинку с зажимом. Под кожу конечностей вводят игольчатые электроды от электрокардиографа по стандартной схеме.

Завершив подготовку к эксперименту, на ленте кимографа регистрируют артериальное давление и сердечные толчки, записывают электрокардиограмму. В полость перикарда через канюлю постепенно вводят 20 мл теплого (37 °С) изотонического раствора натрия хлорида. Возникает тампонада сердца, идентичная нативной патологии (скопление экссудата при перикардите, крови при разрывах аорты, транссудата при водянках). Давление в околосоердечной сумке повышается, происходит сдавливание предсердий и правого желудочка, уменьшается диастолическое наполнение полостей сердца, снижается артериальное давление, повышается венозное давление в системе малого и большого кругов кровообращения. Нарушаются все функции сердца, в результате может наступить его полная остановка, что отчетливо видно на электрокардиографической кривой.

Не допуская полного прекращения сердечной деятельности, откачивают жидкость из перикардиальной полости. В результате быстро восстанавливается артериальное давление, постепенно нормализуется биоэлектрическая активность миокарда.

**Оформление протокола опыта.** Записывают порядок подготовки к опыту. Изменения уровня артериального давления и сокращений сердца при тампонаде изображают в виде схем. Вклеивают электрокардиограммы, которые обрабатывают и анализируют. Делают выводы о влиянии повышенного давления в полости перикарда на деятельность сердца.

**Опыт 6.** Моделирование экстрасистолии на сердце лягушки.

**Материальное оснащение:** препаровальные иглы (2); глазные ножницы (2); пинцеты (2); препаровальные дощечки (2); булавки (12); электрокардиографы (2); подопытные животные: лягушки (2).

**Постановка опыта.** Обездвиженную спинальную лягушку помещают на препаровальной дощечке брюшком вверх и фиксируют булавками. Удаляют часть грудины над проекцией сердца, освобождают его от перикарда. По традиционной схеме с помощью игольчатых электродов подключают электрокардиограф и записывают исходную электрокардиограмму во втором отведении. В момент записи острой иглой последовательно механически раздражают предсердия в области синусного узла, в области пограничного узла (по границе между предсердиями и желудочком), в области стенки желудочка. Раздражение проводят либо в момент систолы, либо в момент диастолы тотчас же после очередного сокращения миокарда. Отмечают разницу в ответной реакции на раздражения, нанесенные в период систолы и диастолы.

Сравнивают обычный сердечный цикл с сердечным циклом, наблюдаемым после механического раздражения каждой из вышеуказанных областей сердца. Обращают внимание на продолжительность интервала Т—Р после обычного и внеочередного желудочкового комплекса. Экстрасистолия обычно сопровождается компенсаторной паузой. Кроме того, анализируют конфигурацию и вольтаж предсердного и желудочкового комплексов при обычных и внеочередных сокращениях.

**Оформление протокола опыта.** Записывают ход опыта, последовательность механических раздражений элементов проводящей системы и миокарда. Вклеивают и обрабатывают электрокардиограммы. Анализируют и объясняют механизм наблюдаемых экстрасистол. Делают выводы.

**Задание 2.** На подопытных животных изучить недостаточность кровообращения сосудистого происхождения.

**Опыт 1.** Моделирование гипер- и гипотензии у кролика.

**Материальное оснащение:** операционные станки для кроликов (2); водные манометры (2); секундомеры (2); хирургические наборы (2); сосудистые канюли (2); глазные пипетки (2); раствор адреналина (1 : 1000) (2 мл); 0,9%-ный раствор натрия хлорида (500 мл); раствор гепарина (5000 ЕД в 1 мл) (1 мл); 0,25%-ный раствор новокаина (50 мл); 5%-ный спиртовой раствор йода (10 мл); ампула 1%-ного спиртового раствора нитроглицерина (5 мл); подопытные животные: кролики (2).

Постановка опыта. Кролика массой 2—2,5 кг фиксируют на операционном столике брюшком вверх. Готовят после операции в области шеи: выстригают шерсть, смазывают раствором йода, проводят инфильтрационную анестезию 0,25%-ным раствором новокаина. Делают разрез по белой линии, обнажают и отпрепаровывают обе сонные артерии. Одну из них в краниальном углу разреза перевязывают, на ее каудальный конец накладывают зажим Диффенбаха. Ближе к краниальному концу отпрепарованного отрезка артерию косо надрезают, в нее вводят и фиксируют полиэтиленовую канюлю соответствующего диаметра. Канюлю наполняют физиологическим раствором с гепарином и соединяют с водным манометром (рис. 39). Прибор представляет собой стеклянную трубку внутренним диаметром 4 мм, длиной 200 см, укрепленную на деревянной рейке, фиксированной в вертикальном положении штативом. Под трубку подкладывают белую бумагу с градуировкой. На нижний конец манометра надевают резиновую трубку, через которую его наполняют до отметки 130 см гепаринизированным физиологическим раствором, слегка окрашенным тушью в черный цвет.

Трубку пережимают пинцетом Пеана, свободный конец трубки надевают на сосудистую канюлю. Пинцет Пеана снимают, убеждаются в герметичности системы, а затем убирают зажим Диффенбаха. Визуально хорошо просматриваются колебания артериаль-

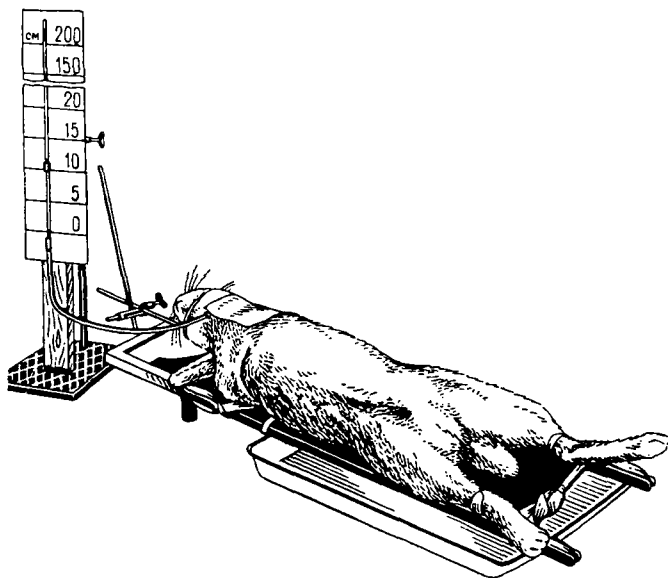


Рис. 39. Водный манометр для визуального наблюдения за уровнем артериального давления у кроликов (кошек)

ного давления по перемещению края окрашенной жидкости в стеклянной трубке. Для предупреждения свертывания крови в краевую вену уха вводят 0,2 мл гепарина (5000 ЕД в 1 мл) в 2 мл физиологического раствора.

После окончания подготовки и установления постоянного уровня артериального давления приступают к раздражению рецепторного аппарата кожи: кролика несколько раз поглаживают рукой по брюшку по шерсти и против шерсти. Наблюдают за колебаниями уровня водного столба. Затем в ушную вену вводят 0,3 мл раствора адреналина (1 : 1000), разведенного в 2 мл изотонического раствора натрия хлорида. Введение проводят медленно, следя за повышающимся уровнем артериального давления, которое не должно превышать 180—190 см водного столба, так как иначе жидкость будет выливаться из манометра. После достижения максимальных величин давление начинает снижаться, но не до исходного уровня, а, как правило, гораздо ниже, выравниваясь в последующем.

После стабилизации на слизистую оболочку рта наносят две капли 1%-ного спиртового раствора нитроглицерина. Следят за снижением уровня артериального давления и за его восстановлением.

По выбору экспериментатора можно использовать и другие воздействия на организм кролика, приводящие к существенным колебаниям уровня артериального давления.

**Оформление протокола опыта.** Кратко описывают подготовку к эксперименту. Фиксируют исходное артериальное давление в сантиметрах водного столба, время подъема после инъекции адреналина, время снижения и периода восстановления, время реакции на всасывание раствора нитроглицерина слизистой оболочкой рта. Объясняют механизм развития кратковременной экспериментальной гипер- и гипотензии. Делают выводы.

**Опыт 2.** Экспериментальная гипертензия растормаживания у кролика.

**Материальное оснащение:** операционные столы для кроликов (2); хирургические наборы (2); сосудистые полиэтиленовые канюли (2); электрокимографы с удлинительными (2); ртутные манометры (2); шприцы на 5 мл с иглой (2); шприц на 1 мл с иглой; 0,9%-ный раствор натрия хлорида (150 мл); раствор гепарина (5000 ЕД в 1 мл) (1 мл); 2%-ный раствор новокаина (5 мл); 5%-ный раствор натрия этаминала (6 мл); подопытные животные: кролики (2).

**Постановка опыта.** Кролика фиксируют на станке брюшком вверх. Подкожно вводят 5%-ный раствор натрия этаминала по 0,8 мл на 1 кг массы тела. В области шеи подготавливают поле операции. Делают разрез кожи по белой линии тупым путем, используя изогнутый (зубной) пинцет, отпрепаровывают справа и слева нервно-сосудистый пучок. Аккуратно выделяют сонную артерию, берут ее на лигатуру и слегка приподнимают кверху. Под

сонной артерией находят три нервных ствола. Самый толстый из них, белый, блестящий — блуждающий нерв, розовато-серый — симпатический и самый тонкий — депрессорный нерв. Выделяют оба депрессорных нерва (с обеих сторон шеи) и подводят под каждый из них разволокненную шелковую нить. В одну из артерий вводят сосудистую канюлю, заполненную физиологическим раствором с гепарином. Наложением двух лигатур укрепляют канюлю и соединяют с ртутным манометром, писчик которого подводят к ленте кимографа.

Во время записи кимографа последовательно перерезают оба депрессорных нерва, взятых ранее на лигатуру. Обращают внимание на изменение артериального давления. После приближения его к исходному уровню в рыхлую соединительную ткань, окружающую правый и левый каротидные синусы, вводят по 1 мл 2%-ного раствора новокаина. Следят за меняющимся уровнем артериального давления.

**О ф о р м л е н и е   п р о т о к о л а   о п ы т а .** Записывают ход операции. Отмечают исходный уровень артериального давления и его изменения после перерезки депрессорных нервов и новокаиновой блокады синокаротидной рефлексогенной зоны. Зарисовывают соответствующие колебания уровня артериального давления. Объясняют механизм моделируемой гипертензии.

## **ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ**

1. Недостаточность кровообращения. 2. Генез клинических проявлений недостаточности кровообращения (тахикардия, одышка, венозная гиперемия, цианоз, отеки, снижение продуктивности сельскохозяйственных животных). 3. Недостаточность кровообращения сердечного происхождения. 4. Тоногенная и миогенная дилатация сердца. 5. Физиологическая и патологическая гипертрофия сердечной мышцы. 6. Пороки сердца: расстройства кровообращения и их компенсация. 7. Миокардит. 8. Тампонада сердца. 9. Нарушение функции автоматизма сердца. 10. Нарушение функции возбудимости сердца (экстрасистолы). 11. Нарушение функции проводимости сердца (блокады проводящих путей). 12. Нарушение функции сократимости сердца. 13. Нарушения коронарного кровообращения. 14. Инфаркт миокарда. 15. Изменения электрокардиограмм при нарушении основных функций сердца (аритмиях). 16. Перикардит. 17. Нарушения гемодинамики при недостаточности левого и правого желудочков. 18. Недостаточность кровообращения сосудистого происхождения. 19. Повышение артериального давления (гипертензия). 20. Атеросклероз. 21. Гипертоническая болезнь. 22. Падение артериального давления (гипотензия). 23. Шок, его виды, патогенез. 24. Коллапс. Изменение гемодинамики. 25. Обморок.

## **ЗАДАЧИ**

1. При диспансеризации стада коров ветеринарный врач обратил внимание на положительный венный пульс у одного из животных (частота сердечных сокращений 92, частота дыхания 29 в 1 мин). Корова часто отставала от стада, молочная продуктивность ее была понижена. Для какого порока сердца характерен положительный венный пульс? Какие расстройства кровообращения возникают при декомпенсации этого порока?

2. При анализе электрокардиограммы, снятой у лошади в возрасте 12 лет, было установлено, что на два комплекса QRST приходится только один зубец Р. После мышечной нагрузки зубец Р появляется только через 3—4 желудочковых комплекса. Нарушение какой функции сердца выявлено у лошади? Какова локализация патологического процесса в проводящей системе сердца, если исходить из данных анализа ЭКГ?

3. Подопытному кролику в толщу стенки левого желудочка ввели 0,2 мл скипидара. Какая патология сердца промоделирована? Какие изменения возникнут на электрокардиографической кривой?

4. У коровы развилась острая тимпания рубца. Был сделан прокол брюшной стенки и рубца троакаром. Газы, скопившиеся в преджелудках, были быстро выведены. Однако вскоре животное упало, попытки поднять корову ни к чему не привели. Усилилась брадикардия, возникло периодическое дыхание, появились судороги. Животное было вынужденно убито. Что произошло с коровой? Какая ошибка была допущена при лечении первичного заболевания?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Использование туловишных отведений для регистрации биопотенциалов сердца здоровых и больных копытных животных.

2. Патогенез травматического перикардита у крупного рогатого скота.

3. Аритмии сердца у лошадей.

## ЛИТЕРАТУРА

Минеев И. Ф., Гадеванишвили Д. М., Сельцер В. К. Пособие по поликардиографии мелких лабораторных животных. — Тбилиси: ГМИ, 1973.

Новошинов Г. П. Звуки и биоэлектрические потенциалы сердца у животных в норме и при патологических процессах. — Казань: КВИ, 1969.

Петрищев Н. Н. Тромборезистентность сосудов. — СПб., 1994.

Рошевский М. П. Электрокардиология копытных животных. — Л.: Наука, 1978.

Сравнительная электрокардиология/Под ред. М. П. Рошевского. — Л.: Наука, 1981.

Электрокардиография сельскохозяйственных животных (Методические рекомендации)/Составитель Е. Ф. Дымко и др. — Алма-Ата, 1980.

## Тема 14

### ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

**Цель занятий.** Изучить нарушения, возникающие в организме животных при расстройствах деятельности иммунной системы.

**Задание 1.** Отработать методику тимэктомии у животных разных видов. Операцию часто применяют для выявления участия вилочковой железы в иммунной и других функциях организма.

**Опыт 1.** Отработка метода неонатальной оперативной тимэктомии у крыс.

**Материальное оснащение:** набор хирургических инструментов; стерилизатор; шовный материал; 70%-ный раствор этанола; аспиратор; масляный насос; коллоидий; эфир; операционный стол для мелких животных; подопытные животные: крысы 2-дневного возраста (3).



**Техника операции.** Животных оперируют в первые 48 ч после рождения под легким ингаляционным наркозом. Наркотизированных крысят фиксируют брюшком вверх на операционном столике. Подготавливают поле операции в области нижней части шеи с соблюдением правил асептики. Острым скальпелем делают сагиттальный разрез кожи по средней линии вниз от середины шеи на 3—4 см выше переднего края грудной клетки. Передние шейные мышцы раздвигают, осторожно рассекают грудину, продолжая разрез до уровня третьего ребра. В случае, если отверстие станет широким, операция будет затруднена из-за пролабирования легкого в рану.

Находят зобную железу и аккуратно отпрепаровывают ее тупым путем от связок с плеврой, крупными кровеносными сосудами, перикардом. Отделение тимуса производят с его нижнего края. Для удаления зобной железы используют аспиратор, сочлененный с вакуумным масляным насосом; аспиратор должен иметь ампуловидное расширение, через которое осуществляют визуальный контроль за полнотой экстирпации. Завершив удаление ткани железы, рану присыпают стрептоцидом, кровотечение останавливают тампонированием или используют гемостатическую губку. Сначала несколькими швами закрывают грудину, а затем двумя-тремя швами соединяют края кожной раны. Кожные швы покрывают коллодием.

Аналогичную операцию выполняют у второго крысенка, а третьего используют в качестве контроля, подвергнув наркотизированию, фиксации, рассечению тканей без тимэктомии.

**Опыт 2.** Отработка метода неонатальной оперативной тимэктомии у мышей.

**Материальное оснащение:** глазные ножницы; пинцеты; иглодержатели; 70%-ный этанол; стереомикроскоп; пенопластовая дощечка; пастеровская пипетка с грушей; стерильный шовный материал; подопытные животные: мыши 1—4-дневного возраста (3).

**Техника операции.** Мышей подвергают легкому эфирному ингаляционному наркозу либо охлаждают в сосудах, помещаемых в лед. Наркотизированного мышонка размещают на пенопластовой дощечке. Передние и задние лапки, верхнюю челюсть фиксируют к подложке резинками. Готовят поле операции. Под контролем стереомикроскопа для вскрытия верхнего средостения проводят продольный разрез длиной 3—4 мм ниже краниального края грудной кости. Отодвигают поверхностные мышцы и обнаруживают доли вилочковой железы. Удаляют их в один или два этапа. Вначале приподнимают тимус у нижнего конца, затем механически аспирируют, используя пастеровскую пипетку с грушей. Операционную рану закрывают двумя-тремя швами. До возвращения оперированных мышат к матери их содержат 2—4 ч под настольной лампой при температуре около 30 °С. Аналогичную

операцию проводят второму мышонку, третьего подвергают тем же манипуляциям, за исключением тимэктомии. Он является контрольным. При некотором навыке экспериментатора операция легко выполнима, смертность подопытных животных не превышает 5 %. Полнота удаления всей ткани тимуса может быть контролирурована по выходу животного из опыта гистологически.

**Опыт 3.** Отработка метода оперативной тимэктомии у кур.

**Материальное оснащение:** набор хирургических инструментов; глазные ножницы; пинцеты; зажимы; иглодержатель; стерилизатор; 70%-ный раствор этанола; ватно-марлевые тампоны; стерильный шовный материал; эфир для ингаляционного наркоза; подопытные животные: петушки в возрасте 20—30 дней (3).

**Техника операции.** Кур предварительно подвергают легкому ингаляционному наркозу либо используют местную инфильтрационную анестезию 1%-ным раствором новокаина, вводимого в ткани области операционного поля. На дорсальной поверхности шеи и в области груди выщипывают перья, кожу смазывают спиртом. Птицу фиксируют на операционном столике спиной вверх, вытягивают шею, крылья оттягивают назад и прижимают к туловищу. Делают разрез кожи от границы между верхней и средней третями шеи до ее основания. Захватив зажимами края разреза, отворачивают их в стороны. В подкожной клетчатке находят дольки зобной железы, прилегающие к внутренней поверхности кожи. Каждую дольку захватывают глазным пинцетом, слегка приподнимают, аккуратно отпрепаровывают вместе с капсулой от окружающих тканей. Особенно тщательно отделяют нижнюю часть железы, прилегающую к яремной вене. Отходящие к железистым долькам веточки блуждающего нерва перерезают. После поочередного удаления долек тимуса пинцетом слегка приподнимают и подтягивают яремную вену. Обнаруживаются оставшиеся дольки железы, уходящие в глубь подключичной области. На этом участке положение долек относительно вены изменено. Они прикреплены к ней своим верхним краем.

В некоторых случаях все дольки зобной железы, вплоть до щитовидной железы, удается удалить, не нарушая их целостности. Щитовидная железа хорошо различима, для нее характерны плотная консистенция и более темная окраска. Однако в большинстве случаев описанный метод не дает возможности тотального иссечения железистой ткани.

Для полного удаления тимуса разработан дополнительный прием — второй этап тимэктомии. Сквозь дорсальный разрез шеи удаляют лишь 2—3 дольки с каждой стороны. Оставшиеся с каждой стороны в шейной части 1—2 дольки зобной железы прошивают нитками, концы которых оставляют в глубине раны, достигающей до подключичной области. Первый этап завершают, засыпая рану стрептоцидом и накладывая на ее края несколько узловатых

швов. Затем, на последующем этапе, птицу переворачивают спиной вниз и фиксируют наложением тесемок.

В грудной области делают U-образный разрез кожи, вершина которого находится в месте соединения ключицы. Образовавшийся лоскут кожи отпрепаровывают и откидывают. Излишки жировой клетчатки иссекают. Через кожный разрез по обе стороны позвоночного столба тупым путем рассекают рыхлую соединительнотканную клетчатку, находят оставленные концы лигатуры. Нити захватывают, с их помощью подтягивают к раневой поверхности фиксированные дольки железы вместе с яремной веной. Они хорошо различимы, доступны для препаровки и удаления.

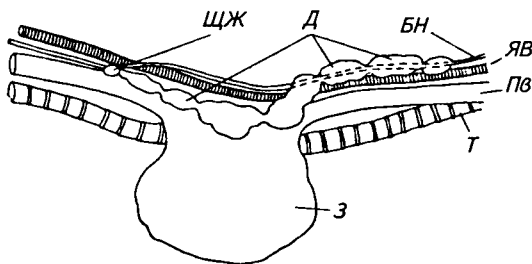
При операции с правой стороны (рис. 40) следует предварительно выделить зоб из подкожной клетчатки и отвести его в сторону. Расположенные на поверхности зоба доли вилочковой железы легко отпрепаровываются, особенно с латеральной стороны. Операция завершается тщательной ревизией операционного поля с использованием лупы. Возможные остатки вилочковой железы удаляют. Зоб размещают на старом месте, рану засыпают стрептоцидом, края кожного разреза соединяют узловатыми швами.

Оперированную птицу помещают в индивидуальную клетку для предупреждения расклевывания раны, что наблюдают при групповом содержании. Швы снимают спустя 7—8 дней после тимэктомии.

Подобным же образом оперируют второго петушка, третьего подвергают ложной тимэктомии, рассекая только кожу и подлежащие ткани.

Оперированных животных помещают в виварий, ведут длительные наблюдения и периодически демонстрируют на занятиях.

**Задание 2.** Изучить характер изменений Т-системы иммунитета у поросят-гипотрофиков.



**Рис. 40. Схема расположения тимуса у кур (правая сторона) (Георгиевский, 1963):**

Д — дольки тимуса; ПВ — пищевод; З — зоб; ЯВ — яремная вена; БН — блуждающий нерв; Т — трахея; ЩЖ — щитовидная железа

**Опыт 1.** Определить относительное и абсолютное содержание Т-лимфоцитов в единице объема периферической крови здоровых и гипотрофичных поросят.

**Материальное оснащение:** микроскопы (6); водяная баня; холодильник; центрифуга; пробирки центрифужные; ареометр; предметные и покровные стекла; камеры Горяева; иглы Боброва; гепарин; 9%-ный раствор феколла; 76%-ный раствор верографина или урографина; эритроциты барана; 2-S-аминоэтил-изотиоуроний бромид (АЭТ); метанол; забуференный физиологический раствор (ЗФР); водный раствор эозина; 0,6%-ный раствор глутарового альдегида; рабочий раствор акридинового оранжевого; натрия азид; кровь от здоровых и гипотрофичных поросят.

**Постановка опыта.** Предварительно следует получить кровь от здоровых (контрольных) и гипотрофичных (подопытных) поросят одного и того же возраста (30—45 дней) и пола. Кровь берут утром до кормления из внутреннего венозного синуса глаза по методике Джипонта (1982). Иглой Боброва прокалывают верхнее веко на 0,25—0,5 см выше внутреннего угла глаза. Иглу проводят внутрь по костной орбите глаза, направляя несколько вниз и продвигая на глубину 2—4 см, до момента прокола стенки венозного синуса. Кровь собирают в силиконизированные пробирки: в предварительно наполненную антикоагулянт (гепарин из расчета 100—200 ЕД на 10 мл крови) и без антикоагулянта.

По общепринятым методикам определяют общее число лейкоцитов в пробах крови, по окрашенным мазкам выводят лейкограмму с последующим определением абсолютного содержания каждого типа лейкоцитов.

С целью выявления количества Т-лимфоцитов используют метод разделения крови на градиенте плотности путем центрифугирования.

Градиент плотности (разделяющий раствор) готовят путем добавления 20 мл 76%-ного верографина или урографина к 110 мл 9%-ного раствора феколла. Под контролем ареометра путем добавления воды плотность раствора доводят до 1,077 г/мл. Этот раствор стерилизуют автоклавированием 30—40 мин при 50 кПа (0,5 атм), после чего его можно хранить при 4 °С более месяца.

Для выделения лимфоцитов берут гепаринизированную или дефибринированную кровь. Удаление тромбоцитов путем осторожного вращения тонкой деревянной палочкой предотвращает возможную конгломерацию лимфоцитов, повышает точность метода. Стабилизированную кровь в количестве 3—5 мл разводят в 2—3 раза забуференным (рН 7,2—7,4) физиологическим раствором. Разведенную кровь накладывают на предварительно налитый в центрифужные пробирки разделяющий раствор. Объем накладываемого на градиент количества крови должен соотноситься как 1 : 4, т. е. 1 мл крови накладывают на 4 мл градиента. Пробирки закрывают резиновой пробкой либо заклеивают парафином и помещают в центрифужные стаканчики. Центрифугируют при комнат-

ной температуре 15 мин со скоростью 1500 г. Для остановки ротора не следует пользоваться тормозом во избежание перемешивания образовавшихся в пробирке слоев. Самый нижний из них представляет собой осадок эритроцитов с гранулоцитами, выше определяется слой из суспензии гранулоцитов, еще выше — на границе разделения фаз — находится слой моноклеарных клеток, поверх которых расположен слой плазмы крови. Этот поверхностный прозрачный слой отсасывают, а затем осторожно со всей площади пробирки пастеровской пипеткой собирают моноциты и переносят в новую центрифужную пробирку. Полученную смесь клеток разбавляют в 4—5 раз 3ФР и отмывают центрифугированием при 300 г в течение 10 мин. Осевшие в центрифуге клетки вновь ресуспензируют, приготавливают 1%-ную взвесь, определяют концентрацию и доводят до  $2 \cdot 10^6$  кл/мл 3ФР при рН 7,2—7,4.

Определение содержания Т-лимфоцитов в крови свиней основано на выявлении у этих субпопуляций клеток белой крови рецепторов к эритроцитам барана, отсутствующих на мембранах В-лимфоцитов.

Контакт моноклеаров, выделенных из испытанных образцов крови, с эритроцитами барана осуществляют следующим образом. Берут 100 мкл испытуемой суспензии и смешивают со 100 мкл 0,5—0,6%-ной суспензии отмытых эритроцитов барана. Полученную взвесь осторожно перемешивают, инкубируют 5 мин при 37 °С, после чего центрифугируют при 200 г. Затем центрифужные пробирки помещают в холодильник (4 °С), где выдерживают в течение 1 ч. Допускается выдерживание и до 18 ч.

По истечении необходимого времени в изъятые из холодильника пробирки добавляют 50 мкл 0,6%-ного раствора глутарового альдегида и инкубируют при комнатной температуре 20 мин, затем смесь клеток ресуспензируют, осторожно вращая пробирки между ладонями рук.

Проведенные манипуляции обеспечивают присоединение эритроцитов барана к поверхности Т-лимфоцитов соответственно специфичности расположенных там рецепторов. В результате образуются структуры, напоминающие розетки. Центр сформированной розетки представлен Т-лимфоцитом, окруженным по периферии эритроцитами. За розеткообразующую клетку (РОК) принимают лимфоцит, адсорбировавший на своей поверхности не менее трех эритроцитов (рис. 41).

Количество розеткообразующих с эритроцитами клеток (Е-РОК) подсчитывают либо в суспензии, либо на мазках. В первом случае готовят препарат «раздавленная капля» или суспензию помещают в камеру Горяева. Число розеткообразующих клеток подсчитывают под иммерсией и увеличением 900. Просматривают не менее 200 клеток, отдельно считая розеткообразующие и свободные клетки.

В суспензию клеток, фиксированных глutarовым альдегидом, можно добавить 50—100 мкл рабочего раствора акридинового оранжевого. Его готовят путем добавления 50 мкл 5,5%-ного раствора этого красителя в 3ФР к 5 мл 3ФР. Взвесь клеток осторожно перемешивают и спустя несколько минут исследуют под люминесцентным микроскопом. В препарате «раздавленная капля» или в камере Горяева ядра лимфоцитов будут светиться ярко-зеленым светом, эритроциты же остаются бесцветными.

Если появляется необходимость повторного использования суспензии клеток, то в нее добавляют 5 мл воды, перемешивают, центрифугируют 5 мин при 200 g, ресуспензируют в 100—200 мкл 3ФР с 0,08 % натрия азида. Подготовленную таким образом смесь клеток хранят при 4 °С.

Число Т-лимфоцитов у здоровых и гипотрофичных поросят можно подсчитать также, изготовив мазки из суспензии мононуклеаров. С подобной целью после заключительного центрифугирования надосадочную жидкость аккуратно удаляют, оставляя 100—200 мкл. В этой остаточной жидкости клетки осторожно ресуспензируют. Берут предметное обезжиренное стекло и на половине его поверхности тонким слоем распределяют суспензию клеток. Мазок высушивают при комнатной температуре, фиксируют метанолом и окрашивают по Романовскому—Гимзе или такими красителями, как водные растворы эозина, прочный или светлый зеленый и др.

Готовые мазки исследуют под иммерсионной системой микроскопа. В мазке подсчитывают 100 (лучше 200) лимфоцитов, определяя процентное соотношение розеткообразующих Т-лимфоцитов к индифферентным мононуклеарам. Установив относительное содержание Т-лимфоцитов и используя показатели ранее выведенной лейкограммы, определяют абсолютное число Т-лимфоцитов в исследуемых пробах крови свиней.

**Пример расчета.** Содержание лейкоцитов в крови свиней 16,0 тыс./мкл (16,0 Г/л). На долю лимфоцитов согласно лейкограмме приходится 65 %, следовательно, их абсолютное содержание в единице объема крови равно

$$\frac{16000 \cdot 65}{100} = 160 \cdot 65 = 10,4 \text{ тыс./мкл (10,4 Г/л).}$$

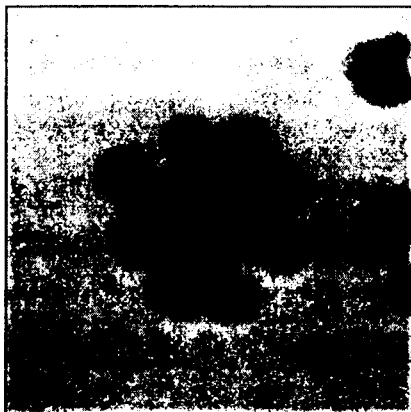


Рис. 41. Розеткообразующий Т-лимфоцит

На долю розеткообразующих Т-лимфоцитов (Е-РОК), по подсчетам, пришлось, например, 14 %. Следовательно, их абсолютное содержание в единице объема крови будет равно

$$\frac{10400 \cdot 14}{100} = 104 \cdot 14 = 1,46 \text{ тыс/мкл (1,46 Г/л)}.$$

**Опыт 2.** Определить в крови здоровых и гипотрофичных поросят число Т-хелперных и Т-супрессорных клеток, коэффициент дифференциации Т-лимфоцитов.

**Материальное оснащение:** в добавление к оснащению, использованному в предыдущем опыте, следует добавить препарат теофиллина. Готовят его ex tempore, добавляя 5 мг теофиллина к 5 мл физиологического раствора.

**Постановка опыта.** Установлено, что теофиллинрезистентные розеткообразующие (Етр-РОК) Т-лимфоциты обладают хелперной активностью, теофиллинчувствительные (Етч-РОК) — супрессорной и цитотоксической. Для выявления принадлежности Т-клеток к этим субпопуляциям к 100 мкл готовой взвеси лимфоцитов ( $2 \cdot 10^6$  кл/мл ЗФР, рН 7,2) с эритроцитами барана добавляют 100 мкл приготовленного препарата теофиллина. Инкубируют 60 мин при 37 °С. Дальнейший ход исследования такой же, как при определении общего количества Т-лимфоцитов, с учетом того, что теофиллин изменяет активность розеткообразования с эритроцитами. Получив исходные данные, рассчитывают коэффициент дифференцировки Т-лимфоцитов.

**Пример расчета.** Количество Етр-РОК было равно 1,4 тыс/мкл, количество Етч-РОК — 0,4 тыс/мкл, коэффициент дифференцировки составит  $1,4 : 0,4 = 3,5$ .

**Оформление протокола опыта.** На занятиях студенты предварительно получают приготовленные одним из описанных методов препараты из крови здоровых и гипотрофичных поросят. Определяют относительное и абсолютное содержание Т-лимфоцитов и их субпопуляций в единице объема крови. Сопоставляют полученные данные, делают выводы, результаты заносят в свои конспекты.

**Задание 3.** Изучить характер изменений В-системы иммунитета у поросят-гипотрофиков.

**Опыт.** Определение относительного и абсолютного содержания В-лимфоцитов в единице объема крови здоровых (контрольных) и гипотрофичных (подопытных) поросят месячного возраста. Выявление количества В-клеток основано на выявлении мембранных маркеров, которые представлены иммуноглобулинами и рецепторами к третьему компоненту комплемента (С3). Ведется подсчет моноклеаров, несущих эти маркеры.

**Материальное оснащение:** для выполнения задания необходимо то же обеспечение, что было использовано при выделении лимфоцитов в градиенте плотности, кроме того, необходимы раствор Хенкса, зимозан, нативная мышьяная сыворотка крови, конъюгат ЕСБА.

**Постановка опыта.** Проведению реакции предшествует подготовка суспензии зимозана. Берут 100 мг препарата, заливают его 10 мл физиологического раствора, кипятят в водяной бане 30 мин, центрифугируют при 400 g 10 мин, осадок ресуспендируют в 20 мл физиологического раствора. Концентрацию частиц зимозана доводят до  $2 \cdot 10^5$  в 1 мкл. Считают в камере Горяева. Полученный препарат зимозана хранят в холодильнике при 4 °C. В течение 15 дней он пригоден для работы.

**Первый метод.** Готовую суспензию зимозана в количестве 0,5 мл смешивают с 0,5 мл свежей нативной мышьяной сыворотки, предварительно разведенной физиологическим раствором в соотношении 1 : 5. Полученную смесь инкубируют 30 мин в водяной бане при 37 °C. Дважды путем 10-минутного центрифугирования при 400 g отмывают раствором Хенкса и ресуспендируют в объеме 1 мл. Затем 100 мкл суспензии частиц зимозана, нагруженных С3-фракцией комплемента (сыворотка мыши), смешивают со 100 мкл взвеси лимфоцитов, полученной по ранее описанной методике дифференциального центрифугирования. Концентрация в исследуемой пробе должна составлять  $2 \cdot 10^6$  кл/мл. Полученную смесь лимфоцитов и зимозана подвергают 5-минутному центрифугированию при 200 g, затем тотчас готовят препарат «раздавленная капля», т. е. на чистое, обезжиренное спирт-эфиром предметное стекло помещают каплю испытуемого центрифугата и накрывают обработанным тем же способом покровным стеклом. Под иммерсионной системой микроскопа определяют соотношение розеткообразующих В-клеток и свободных от частиц зимозана мононуклеаров.

**Вторым доступным методом** количественного определения В-лимфоцитов свиней может быть также подсчет числа розеткообразующих клеток с конъюгатом ЕСБА. Этот стафилококковый белок А, выделенный из *Staph. aureus*, способен связываться с иммуноглобулинами мембраны В-лимфоцитов.

Последовательность манипуляций следующая. Путем дифференциального центрифугирования получают исходную суспензию мононуклеаров. Берут 100 мкл этой взвеси с концентрацией  $2 \cdot 10^6$  кл/мл в 3ФР, содержащем (обязательно!) 0,08 % азида натрия, и соединяют со 100 мкл 0,05%-ной суспензии ЕСБА.

Аккуратно перемешивают содержимое пробирки и центрифугируют 5 мин при 200 g. По извлечении из центрифуги (не пользоваться тормозом для остановки ротора!) пробирки на 30—60 мин помещают в холодильник при 4 °C. После инкубации осадок ресуспендируют, осторожно вращая пробирку между ладонями. Подсчитывают розеткообразующие В-лимфоциты под иммерси-



онной системой микроскопа в суспензии на препарате «раздавленная капля». Готовить мазки из центрифугата в этом случае нецелесообразно ввиду малой прочности образовавшихся розеток.

*Третьим методом*, нередко используемым в ветеринарной иммунологии, можно считать определение числа В-лимфоцитов в реакции розеткообразования с эритроцитами барана, обработанными антителами и комплементом (ЕАС-РОК).

Последовательность процедур следующая. Обычным путем, как описано ранее, получают рабочую взвесь мононуклеаров с концентрацией  $2 \cdot 10^6$  кл/мл. Готовят к инкубации эритроциты барана. Их трижды отмывают раствором Хенкса и доводят до 5%-ной концентрации в том же растворе. Готовую сухую гемолитическую сыворотку против эритроцитов барана разводят в растворе Хенкса до титра 1 : 500. Равные объемы разведенной гемолитической сыворотки и 5%-ной взвеси эритроцитов барана инкубируют в водяной бане 30 мин при 37 °С, затем трижды отмывают центрифугированием по 5 мин при 80 g.

Суспензию лейкоцитов, полученную из испытуемой пробы крови, смешивают с отмытыми эритроцитами барана в пропорции 1 : 50. Пробирки со смесью помещают для инкубирования в водяную баню на 30 мин при 37 °С. После этого из инкубата готовят мазки на обезжиренных предметных стеклах, высушивают при комнатной температуре, фиксируют метиловым спиртом и окрашивают по Романовскому—Гимзе. Препарат помещают на столик микроскопа и под иммерсионной системой считают количество розеткообразующих клеток. Определяют относительное количество (%) В-лимфоцитов и их абсолютное содержание в определенном объеме крови (тыс/мкл; Г/л).

*Четвертый метод* выявления содержания В-лимфоцитов в испытуемых пробах крови основан на реакции розеткообразования с эритроцитами мыши, обработанными папаином.

Готовят раствор папаина следующим образом. Берут 4 мл физиологического раствора, 2,5 мг папаина, 36 мг  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 4 мг L-цистеина, смешивают и инкубируют в течение 8 мин при 37 °С. Этим раствором обрабатывают эритроциты мыши в следующей последовательности. В силиконизированную центробежную пробирку помещают 200 мкл промытого осадка мышинных эритроцитов. Туда же добавляют 200 мкл готового раствора папаина. Смесь инкубируют 15 мин при 37 °С, охлаждают до комнатной температуры, центрифугируют 10 мин при 200 g, удаляют надосадок, а к осадку добавляют охлажденный раствор Хенкса и трижды отмывают эритроциты центрифугированием. Из отмытых клеток готовят 0,5%-ную взвесь мышинных эритроцитов (4,975 мл раствора Хенкса + 0,025 мл осадка эритроцитов).

*Постановка реакции розеткообразования*. 100 мкл лимфоцитов соединяют со 100 мкл 0,5%-ной взвеси папаинизированных эритроцитов мыши и 100 мкл раствора

Хенкса с 10 % эмбриональной телячьей сыворотки. Смесь инкубируют 15 мин при 37 °С, центрифугируют при 200 g, помещают в холодильник при 4 °С на 30 мин. Затем осторожно удаляют надосадочную жидкость, из осадка делают мазок на тщательно обезжиренных предметных стеклах путем осторожного (без нажима) размазывания взвеси клеток по стеклу боковой поверхностью пастеровской пипетки. Мазки должны быть расположены на ровной поверхности. Их высушивают при комнатной температуре, фиксируют метанолом (10 мин), окрашивают азу-реозином по Романовскому—Гимзе или метиловым зеленым пиронином.

Подсчитывают количество розеткообразующих и индифферентных лимфоцитов под микроскопом при увеличении окуляра  $\times 15$ , объектива  $\times 90$ . Просчитывают не менее 100 лимфоцитов и вычисляют процент розеткообразующих. При этом ведут дифференцированный подсчет розеткообразующих клеток по количеству присоединившихся к ним эритроцитов: малорецепторные — лимфоциты, присоединившие к своей поверхности 3—6 эритроцитов, многорецепторные — лимфоциты, присоединившие более 6 эритроцитов.

Число розеток можно подсчитать и в нативных препаратах сразу после инкубации, для чего в камеру Горяева или на предметное стекло берут каплю взвеси клеток, осторожно покрывают предметным стеклом и просматривают под микроскопом. Увеличивают процент розеткообразующих клеток на 100—200 лимфоцитов.

Абсолютное содержание В-лимфоцитов в единице объема крови рассчитывают следующим образом.

1. Содержание лейкоцитов в крови свиньи — 16,0 тыс/мкл (16,0 Г/л).

2. На долю лейкоцитов согласно лейкограмме приходится 65 %, следовательно, их общее число равно

$$\frac{16000 \cdot 65}{100} = 160 \cdot 65 = 10,4 \text{ тыс/мкл (10,4 Г/л).}$$

3. На долю розеткообразующих В-лимфоцитов (ЕАС-РОК) пришлось, например, 11,4 %, следовательно, их абсолютное содержание в единице объема крови будет равно

$$\frac{10400 \cdot 11,4}{100} = 104 \cdot 11,4 = 1,18 \text{ тыс/мкл (1,18 Г/л).}$$

Количество «нулевых» лимфоцитов в единице объема крови определяют, исходя из уже известного содержания Т- и В-популяций. Так, из вышеприведенных примеров установлено, что Т-лимфоцитов было 14 % (1,46 тыс/мкл), В-лимфоцитов — 11,4 % (1,18 тыс/мкл). Следовательно, на долю Т- и В-клеток приходи-

лось 25,4 %. Неотдифференцированными остались 74,6 %. В абсолютных величинах число «нулевых» лимфоцитов будет составлять

$$\frac{10400 \cdot 74,6}{100} = 104 \cdot 74,6 = 7,76 \text{ тыс./мкл } (7,76 \text{ Г/л}).$$

**Оформление протокола опыта.** Студенты на занятиях получают готовые к анализу препараты, заранее приготовленные одним из описанных методов из проб крови здоровых и гипотрофичных поросят. Подсчитывают розеткообразующие клетки. Определяют относительное число В-лимфоцитов и их абсолютное содержание в единице объема крови. Вычисляют количество «нулевых» лимфоцитов. Анализируют данные, полученные при просмотре препаратов от контрольных и подопытных животных. Результаты протоколируют.

## ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

1. Общее представление о патофизиологии иммунной системы. 2. Понятие о специфических и неспецифических факторах защиты. 3. Первичные и вторичные иммунодефицитные состояния. 4. Недостаточность Т-системы иммунитета. 5. Способы выявления недостаточности Т-системы иммунитета. 6. Недостаточность В-системы иммунитета. 7. Способы выявления недостаточности В-системы иммунитета. 8. Моделирование недостаточности клеточного и гуморального звеньев иммунитета. 9. Иммунологическая толерантность, ее роль в патологии. 10. Общее представление о синдроме рант (рантинге). 11. Аутоиммунная патология, обусловленная антигенами, антителами и органами иммуногенеза. 12. Аутоиммунные заболевания и аутоиммунные процессы.

## ЗАДАЧИ

1. Анализом иммунологических показателей было установлено, что коэффициент дифференцировки Т-лимфоцитов у больного животного значительно снижен по сравнению с контрольными цифрами. Как трактовать это явление, какие действия должен предпринять лечащий врач?

2. Щенку сибирской лайки в возрасте 2,5 мес была сделана прививка против чумы. Спустя 15 дней у животного появились признаки чумной инфекции: повышение температуры, угнетенное состояние, резкое снижение аппетита, слизистогнойный конъюнктивит, рахит, кашель, катаральный гастроэнтерит, понос. Как можно объяснить возможную неэффективность вакцинопрофилактики?

3. Установлено, что в биогеохимических зонах с высокой техногенной загрязненностью (ионизирующая радиация, соли тяжелых металлов в среде обитания, выбросы ядовитых соединений промышленными предприятиями и др.) значительно повышен аутоантителогенез. Какие объяснения могут быть даны наблюдаемому феномену?

4. Ягнята в первые же дни после рождения заразились от матерей ооцистами кокцидий и спороцистами саркоспоридий. Каких последствий для иммунной системы и состояния всего организма животных можно ожидать в таких случаях?

5. У части цыплят в ранние сроки постнатального онтогенеза появляются признаки физической недостаточности — гипотрофии, сочетающейся с гипофункцией тимуса. Какие меры могут быть приняты для нормализации жизнедеятельности таких птиц?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Взаимосвязь местного и системного иммунитета.
2. Последствия нарушений функций вилочковой железы. Wasting-синдром.
3. Иммунные реакции при гельминтозах.
4. Пептидные иммуномодуляторы, их применение для коррекции иммунодефицитных состояний.
5. Апоптоз, его место в иммунных реакциях.
6. Аутоиммунные заболевания и аутоиммунные процессы.

## ЛИТЕРАТУРА

- Воложин А. И. и др. Иммунитет, типовые формы его нарушения и принципы коррекции. — М., 1995.
- Жаков М. С., Прудников В. С. Иммуноморфология и иммунопатология. — Витебск, 1992.
- Иванов В. И. Иммунодефицитное состояние сельскохозяйственных животных, меры по профилактике и лечению. — М., 1994.
- Лебедев К. А., Понякин И. Д. Иммунограмма в клинической практике. — М., 1990.
- Леутская З. К. Некоторые аспекты иммунитета при гельминтозах. — М.: Наука, 1990.
- Лютинский С. И., Садовников Н. В., Юшков Б. Г. Патологическая физиология иммунной системы домашних животных. — СПб ГАВМ, 1998.
- Фрейдлин И. С. Иммунная система и ее дефекты. — СПб., 1998.
- Чеботкевич В. Н., Лютинский С. И. Методы оценки состояния иммунной системы и факторов неспецифической резистентности в ветеринарии. — СПб., 1999.
- Шабашова Н. В. Лекция по клинической иммунологии. — СПб., 1998.

## Тема 15

### ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ. ГИПОКСИЯ

**Цель занятий.** Изучить этиологические факторы, патогенез и основные проявления нарушений функций органов внешнего дыхания.

**Задание 1.** Изучить изменения внешнего дыхания при нарушении проходимости дыхательных путей и повреждении плевры.

**Опыт 1.** Стеноз трахеи.

**Материальное оснащение:** кимографы (2); газовые часы (2); наборы хирургических инструментов (2); манжетки Рива-Роччи с капсулой Мареза (2); трехходовые каноули (2); подопытные животные: собаки (2), кролики (2).

**Постановка опыта.** Эксперимент можно осуществлять тремя вариантами.

**Вариант 1.** Собаку фиксируют в спинном положении. Дают морфинно-эфирный неглубокий наркоз. Операционное поле готовят на вентральной поверхности средней трети шеи. По средней линии делают разрез кожи длиной 6—8 см. Раздвигая пинцетами мягкие ткани, тупым путем отпрепаровывают трахею на протяже-

нии 5—6 см и подводят под нее толстую лигатуру. Дыхание записывают на ленте кимографа посредством манжетки, соединенной с капсулой Марья. Газовые часы соединяют с трахеей через стеклянную трубку и клапаны таким образом, чтобы вдыхаемый воздух проходил через часы. Измеряют объем вдыхаемого воздуха в течение 2 мин. Установив исходные параметры дыхания (кривую дыхательных движений и объем вдыхаемого воздуха за 2 мин), сдавливают лигатурой трахею, уменьшая ее просвет на  $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ . На кимографе отмечают изменение дыхания и измеряют объем вдыхаемого воздуха за 2 мин. Затем освобождают трахею от лигатуры и через некоторое время повторяют исследование.

*Вариант 2.* Кролика фиксируют в спинном положении. Дают неглубокий наркоз. В трахею вставляют стеклянный тройник, один из отростков которого соединяют с капсулой Марья для регистрации дыхания на ленте кимографа. Оставшийся свободным третий отросток (дыхательный) используют для изменения размера струи вдыхаемого воздуха. Исходную амплитуду движения писчика устанавливают прикрытием отверстия свободного отростка: чем больше закрыто отверстие, тем сильнее движения писчика.

В процессе опыта наблюдают за движениями мышц рта, носа, гортани. Отмечают их синхронность с дыхательными движениями грудной клетки.

Записав исходное дыхание, частично закрывают отверстие дыхательного отростка, имитируя стеноз трахеи. В течение 2—3 мин регистрируют дыхание до появления заметного изменения его, а затем отверстие дыхательного отростка открывают до исходного состояния. Опыт проводить удобнее и точнее, если на дыхательный конец тройника надеть короткий отрезок резиновой трубки с зажимом, которым можно отрегулировать нужную исходную амплитуду дыхательных движений. Сужение трубки (стеноз трахеи) вызывают вторым зажимом, не изменяя положения первого. Во время опыта оставляют свободным отверстие дыхательного отростка, а ротовое и носовое отверстия закрывают.

*Вариант 3.* Опыт проводят на ненаркотизированном кролике, которого фиксируют в спинном положении. Дыхание записывают на ленте кимографа. Затем, поглаживая кролика одной рукой, другой осторожно под кожей шеи прощупывают трахею и захватывают ее между большим и указательным пальцами. При непрерывной регистрации дыхания трахею слегка сдавливают пальцами и делают отметку на кимограмме. Через 30 с прекращают сдавливание трахеи. Наблюдают характерное изменение дыхания, которое можно вызвать много раз. Каждый студент группы может сделать опыт на одном животном.

**Оформление протокола опыта.** Кратко записывают ход опыта и его результаты (объем вдыхаемого воздуха, кривую дыхания) в динамике. Делают выводы. Объясняют механизм изменения дыхания при стенозе трахеи, зажатии отверстий носа и

рта при свободном доступе воздуха в трахею через канюлю. Для объяснения и выводов используют результаты, полученные в опыте, и литературные данные.

### **Опыт 2.** Экспериментальный пневмоторакс.

**Материальное оснащение:** кимографы (2); аппараты Кочкарева (2); манжетки Рива-Роччи с капсулой Маррея (2); ножницы (2); маски для наркоза (2); 1%-ный раствор морфина (5 мл); эфир (100 мл); 5%-ный раствор новокаина (10 мл); подопытные животные: кролики (2) или собаки (2).

**Постановка опыта.** Эксперимент на кролике осуществляют под местным обезболиванием. На собаке опыт проводят под неглубоким морфинно-эфирным наркозом. Животное фиксируют в левом боковом положении. Регистрируют дыхание на ленте кимографа.

Операционное поле готовят на грудной стенке животного в области 3—4-го межреберного промежутка справа. Установив исходное состояние (пульс, пневмограмму), животному вводят воздух в плевральную полость. Для этого используют аппарат Кочкарева или шприц, соединенный с иглой и водным манометром через резиновые трубки и трехходовой кран. Водный манометр позволяет ввести иглу точно в плевральную полость. Без манометра трудно определить глубину укола иглы и нет уверенности, что воздух попадет именно в плевральную полость. Аппарат Кочкарева позволяет в течение всей процедуры введения воздуха и откачивания его из плевральной полости следить за положением иглы. Собаке в зависимости от массы тела вводят 0,5—1 л воздуха (обычно 0,5 л воздуха на 10—12 кг массы тела). Чтобы вызвать заметную одышку у кролика, достаточно ввести 20 мл воздуха. Иногда открытый пневмоторакс приводит к быстрой гибели кролика от острой асфиксии.

После введения воздуха в плевральную полость продолжают регистрировать дыхание и подсчитывать пульс. Если заметных изменений дыхания не происходит, еще одну порцию воздуха вводят в плевральную полость и вновь изучают дыхание и подсчитывают пульс. В завершение опыта воздух откачивают и через несколько минут определяют состояние дыхания и подсчитывают пульс.

**Оформление протокола опыта.** Отмечают технику воспроизведения пневмоторакса, зарисовывают кимограмму с отметкой момента введения воздуха в плевральную полость и откачивания его. Делают выводы. Определяют патофизиологическое значение изменения дыхания и пульса при пневмотораксе.

**Задание 2.** Изучить изменения внешнего дыхания при воздействии химических раздражителей.

### **Опыт 1.** Влияние молочной кислоты на внешнее дыхание.

**Материальное оснащение:** кимографы (2); манжетки Рива-Роччи с капсулой Маррея (2); шприцы на 5 мл с иглами (2); лезвия безопасной бритвы (2); 5%-ный раствор молочной кислоты (5 мл); подопытные животные: кролики (2).

**Постановка опыта.** Кролика фиксируют в спинном положении и наркотизируют. Сбривают шерсть в области краевой вены ушной раковины, кожу протирают ваткой, смоченной спиртом. Записывают исходное дыхание на ленте кимографа. В краевую вену уха вводят иглу и присоединяют к ней шприц с 5%-ным раствором молочной кислоты (0,55 моль/л). Делают отметку времени на кимограмме и вводят в кровь 1—2 мл молочной кислоты. В течение нескольких минут регистрируют дыхание до его восстановления.

**Оформление протокола опыта.** Отмечают дозу молочной кислоты, введенной в вену уха. Зарисовывают кривую изменения дыхания. Делают выводы. Объясняют механизм изменения дыхания под влиянием лактата. Определяют патофизиологическое значение наблюдавшегося изменения внешнего дыхания.

**Опыт 2.** Изменение внешнего дыхания у лягушки, отравленной нитритом натрия (по Я. М. Бритвану).

**Материальное оснащение:** резиновые пластинки для фиксации лягушки (15); серфины и рычажки Энгельмана (15); кимографы (8); шприцы на 2 мл с иглами (8); 20%-ный раствор натрия нитрита (30 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Лягушку фиксируют в спинном положении на резиновой пластинке. К коже нижней челюсти в участке наибольшей подвижности при дыхании прикрепляют серфин и соединяют его с рычажком Энгельмана. Дыхательные движения диафрагмы рта лягушки записывают на ленте кимографа. Под кожу живота вводят 1—1,5 мл 20%-ного раствора натрия нитрита (2,3—3,5 моль). Натрия нитрит можно заменить 20%-ным раствором аммония хлорида, который вводят в дозе 1—1,5 мл. Регистрацию дыхательных движений продолжают до появления патологического типа дыхания.

**Оформление протокола опыта.** Зарисовывают кривую дыхания с отметкой момента времени введения натрия нитрита и появления патологического типа дыхания. Делают выводы. Объясняют механизм возникновения патологического дыхания и определяют его тип.

**Задание 3.** Изучить изменения внешнего дыхания и артериального давления при гипоксии.

**Опыт 1.** Острая асфиксия.

**Материальное оснащение:** кимографы (2); манжетки Рива-Роччи с капсулой Маррея (2); наборы хирургических инструментов (2); комплект перевязочного материала; ртутные манометры (2); эфир для наркоза (200 мл); подопытные животные: собаки (2).

**Постановка опыта.** Собаку фиксируют в спинном положении. Дают неглубокий (ингаляционный) наркоз. В области

шеи готовят поле операции. По средней линии делают разрез кожи длиной 5—6 см. Тупым путем отпрепаровывают трахею и подводят под нее лигатуру. Отпрепаровывают сонную артерию, вводят в нее стеклянную канюлю, которую соединяют с ртутным манометром для регистрации артериального давления. Записав исходные данные артериального давления и дыхания, сдавливают лигатурой трахею и делают отметку времени на кимограмме. За изменением дыхания и артериального давления наблюдают до прекращения дыхания и заметного понижения артериального давления. После этого лигатуру снимают и, массируя грудную клетку, добиваются восстановления дыхания. В другом случае опыт доводят до останова сердца.

**Оформление протокола опыта.** Зарисовывают кривые артериального давления и дыхания. По минутам фиксируют фазные изменения этих показателей. Делают выводы. Объясняют механизм фазных изменений дыхания и артериального давления. Определяют тип гипоксии.

**Опыт 2.** Отравление окисью углерода.

**Материальное оснащение:** спектрограф (1); воронки (2); колбы с краном на 50 мл (2); горелки (2); измерительные пипетки с фильтром на 5 мл (2); формалин (10 мл); дистиллированная вода (40 мл); 50%-ный раствор калия гидроксида (10 мл); 4%-ный раствор натрия фторида (10 мл); 0,5%-ный раствор фенилгидразина (10 мл); концентрированная серная кислота (10 мл); муравьиная кислота (5 мл); подопытные животные: мыши (2).

**Постановка опыта.** Под воронку помещают мышь. В колбу наливают 5 мл серной кислоты и вносят 2 мл муравьиной кислоты. Колбу плотно закрывают и соединяют с воронкой резиновой трубкой. Описав исходное состояние и поведение животного, периодически открывают кран и небольшими порциями подают газ под воронку. Наблюдают за мышью до ее гибели. Затем берут из грудной клетки кровь. Для этого вскрывают грудную клетку, вносят 1—2 капли 5%-ного раствора (0,18 моль/л) натрия цитрата и рассекают сердце. Кровь исследуют на спектрографе или химическим способом на карбоксигемоглобин.

Для спектроскопического анализа две капли цитратной крови из грудной полости вносят в пробирку, в которую добавляют 5 мл дистиллированной воды. Пробирку встряхивают.

Спектр оксигемоглобина содержит две полосы в желто-зеленой части, как и спектр карбоксигемоглобина. Для дифференцировки проводят дополнительную реакцию, в которой оксигемоглобин переводят в дезоксигемоглобин (восстановленный гемоглобин). С этой целью в пробу крови добавляют 5 капель 0,5%-ного раствора фенилгидразина. Если после этого две полосы поглощения сливаются в одну, то в крови содержится дезоксигемоглобин, а не карбоксигемоглобин, который не меняет спектра крови.



Для постановки формалиновой пробы испытуемую кровь смешивают с равным объемом формалина. Через 5—10 мин кровь, содержащая карбоксигемоглобин, приобретает малиновый цвет. Контрольная кровь будет грязно-бурого цвета.

Пробу с дистиллированной водой проводят следующим образом: к 10 мл дистиллированной воды прибавляют 0,1 мл крови. Кровь, содержащая СО, имеет малиновый оттенок, а не желтоватый, как нормальная.

Для постановки пробы с щелочью на предметное стекло с лункой наносят каплю крови и каплю 50%-ного раствора калия гидроксида. Через несколько минут нормальная кровь приобретает грязно-бурый (даже зеленый) оттенок, кровь, содержащая СО, из светло-серой становится коричнево-красной.

**Оформление протокола опыта.** Отмечают состояние и поведение мыши, акцентируя внимание на дыхании до опыта и в процессе отравления. Изменения дыхания регистрируют по минутам. Записывают ход реакции на карбоксигемоглобин крови. Делают выводы и объясняют механизм развития гипоксии, определяют ее тип.

*Опыт 3. Отравление мыши натрия нитритом.*

**Материальное оснащение:** воронки (2); шприцы на 2 мл с иглами (2); спектрограф (1); формалин (10 мл); дистиллированная вода (40 мл); 50%-ный раствор калия гидроксида (10 мл); 40%-ный раствор натрия фторида (10 мл); 0,5%-ный раствор фенилгидразина (10 мл); концентрированная серная кислота (10 мл); муравьиная кислота (5 мл); 1%-ный раствор натрия нитрита (5 мл); 5%-ный раствор натрия цитрата; подопытные животные: мыши (2).

**Постановка опыта.** В шприц набирают 1%-ный раствор (0,15 моль/л) натрия нитрита и вводят его под кожу мыши из расчета 1,5 мл на 20 г массы. Мышь помещают под воронку и ведут наблюдение до момента ее гибели. Затем вскрывают грудную клетку, вносят туда 1—2 капли 5%-ного раствора (0,18 моль/л) натрия цитрата и рассекают сердце. Получают кровь и исследуют ее на содержание метгемоглобина с помощью спектрографа или химическим способом.

Для спектроскопического анализа две капли цитратной крови, взятой из грудной полости, вносят в пробирку, в которую добавляют 5 мл дистиллированной воды, и встряхивают ее. Метгемоглобин обуславливает появление полосы поглощения в красной части спектра. Однако при небольшом количестве метгемоглобина эта полоса бывает нечеткой. Для повышения четкости в кровь добавляют пять капель 40%-ного (9,5 моль/л) раствора натрия фторида. Образуется фторгемоглобин, дающий характерный спектр — четкую полосу поглощения в оранжевой части спектра.

Для постановки формалиновой пробы испытуемую кровь смешивают с равным количеством формалина. Через 5—10 мин кровь, содержащая оксигемоглобин, приобретает грязно-бурый

цвет. Кровь, содержащая метгемоглобин, становится темно-коричневой.

Пробу с щелочью проводят следующим образом. На предметное стекло с лункой наносят каплю крови и каплю 50%-ного раствора (8,9 моль/л) калия гидроксида. Через несколько минут нормальная кровь приобретает грязно-бурый оттенок, а кровь, содержащая метгемоглобин, становится темно-коричневой.

**Оформление протокола опыта.** Описывают состояние и поведение мыши до опыта и в динамике после введения натрия нитрита, отмечая изменения внешнего дыхания. Делают выводы, объясняют механизм развития гипоксии, определяют ее вид.

## ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

1. Понятие внешнего дыхания и его нарушения. 2. Факторы, вызывающие гипервентиляцию легких. 3. Факторы, вызывающие уменьшение вентиляции легких. 4. Изменения содержания  $O_2$  и  $CO_2$  в крови при гиповентиляции легких. 5. Форма изменения вентиляции легких при нарушении проходимости одного бронха, одностороннем пневмотораксе, эмфиземе и воспалении легких. 6. Патологические процессы, нарушающие диффузию газов через альвеоларно-капиллярные мембраны. 7. Что понимают под термином «одышка»? 8. Виды одышек у животных. 9. Виды периодического дыхания. 10. Кашель и его патофизиологическое значение. 11. Асфиксия, стадии острой асфиксии. 12. Что такое пневмоторакс и его виды? 13. Нарушение транспорта  $O_2$  и  $CO_2$  кровью. 14. Гипоксии и классификация гипоксий. 15. Нарушение функций центральной нервной системы, дыхания, кровообращения и обмена веществ при гипоксии.

## ЗАДАЧИ

1. У жеребенка травмирована грудная клетка с правой стороны. Воздух свободно поступает через раневое отверстие в плевральную полость во время вдоха, а во время выдоха свободно выходит. Как называют такую патологию? Каковы ее последствия?

2. Снижение артериального давления сопровождается одышкой. Какой механизм обеспечивает появление этой компенсаторной реакции?

3. У больной кошки прекратилось мочеотделение. Возникло периодическое дыхание. Какой тип периодического дыхания у животного? Каков механизм его развития?

4. Крупозная пневмония сопровождается учащенным поверхностным дыханием. Почему оно учащенное при этой патологии и почему поверхностное?

5. Зафиксировано отравление группы свиней нитратами. Какие расстройства дыхания будут происходить у пораженных животных? Каков их механизм?

6. При двустороннем воспалении легких у теленка понизилось насыщение артериальной крови кислородом. Как называется такое состояние и каков его механизм в данном случае?

7. У лошади при петехиальной горячке возникло дыхание, характеризующееся чередованием периодов дыхательных движений с паузами (апноэ). При этом после паузы дыхательные движения постепенно становятся глубже и чаще, доходят до максимума, а затем плавно убывают и переходят в дыхательную паузу. Последние длятся 0,5—0,75 мин. Как называется этот тип патологического дыхания и каков его механизм?

8. При отравлении животного бензолом развивается гипоксия. К какому типу относится такая гипоксия и каков ее механизм?

9. В дыхательные пути теленка попало инородное тело, дыхательные движения стали редкие, с затруднением вдоха. Где задержалось инородное тело — в трахее или в одном из бронхов и каков механизм нарушения дыхания?

10. В клинику поступила лошадь с серьезными нарушениями дыхания. Правая грудная стенка была повреждена. В отверстие поступал воздух с шумом при вдохе, а при выдохе воздух не выходил из отверстия. Ветеринарный врач немедленно обработал рану и закрыл ее. Правильно ли поступил врач и что это за болезнь, какие могут быть последствия?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Этиология и патогенез асфиксий у сельскохозяйственных животных.
2. Патогенез простудных заболеваний органов дыхания животных.
3. Патогенетические механизмы периодического дыхания.

## ЛИТЕРАТУРА

- Абросимов В. Н. Нарушение регуляции дыхания. — М.: Медицина, 1990.
- Внутренние незаразные болезни крупного рогатого скота/Под ред. П. С. Ионова — М.: Агропромиздат, 1986.
- Душук Р. В. Респираторные болезни свиней. — М.: Колос, 1982.
- Лосев Н. И., Войнов И. Ф. Патопизиология системы внешнего дыхания. — М.: МИИ, 1989.
- Патологическая физиология/Под ред. А. Д. Адо и В. В. Новицкого — Томск, 1994.

## Тема 16

### ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ПИЩЕВАРЕНИЯ

**Цель занятий.** Изучить этиологию, патогенез и последствия расстройств функций органов пищеварения.

**Задание 1.** Изучить нарушения процессов пищеварения в желудке.

**Опыт 1.** Влияние реакции среды содержимого рубца на жизнедеятельность инфузорий.

**Материальное оснащение:** шприц Жанэ на 150—200 мл (1); зевник (1); зонд желудочный (1); микроскопы (15); нагревательные столики (15); колбы с воронкой и марлевой салфеткой (2); 0,05%-ный раствор натрия гидроксида (100 мл); 1,5%-ный раствор молочной кислоты (30 мл); подопытные животные: овца или 10—12-месячный теленок (1).

**Постановка опыта.** Жизнедеятельность инфузорий изучают в содержимом рубца. Содержимое рубца получают от овец или крупного рогатого скота с помощью зонда и зевника. Удобно пользоваться деревянным зевником с отверстием посередине. Зевник фиксируют тесемками за рога или на затылочной части головы. В качестве зонда можно использовать упругий резиновый шланг нужного диаметра. Содержимое рубца через зонд

набирают в шприц Жанэ. Непосредственно перед занятием или во время его содержимое фильтруют через один слой марли. Фильтрат используют в опыте. Жизнедеятельность инфузорий сохраняется в течение одних суток при содержании в термостате при 37 °С.

Наблюдение ведут под малым увеличением микроскопа с нагревательным столиком. Готовят три висячие капли. Для этого берут три предметных стекла с луночками, вокруг которых делают ободок из вазелина. Капли делают на покровных стеклах. На три покровных стекла наносят по небольшой капле содержимого рубца. Затем на первое стекло добавляют каплю воды, на второе — каплю 1,5%-ного раствора молочной кислоты (0,17 моль/л), на третье — каплю 0,05%-ного раствора натрия гидроксида (1,25 моль/л). Жидкости перемешивают стеклянной палочкой или пастеровской пипеткой с запаянным концом. Затем каждое предметное стекло с луночкой, вокруг которой сделан ободок из вазелина, прикладывают к покровному стеклу и быстро, чтобы капля не растеклась, препарат переворачивают вверх покровным стеклом. Тут же помещают препарат под микроскоп и наблюдают за подвижностью инфузорий до прекращения их подвижности во втором и третьем препаратах.

Оформление протокола опыта. Схему постановки опыта и результаты исследований заносят в таблицу 24. Анализируют ее и делают выводы.

**24. Длительность жизни инфузорий в зависимости от реакции среды**

Препарат	Состав	Время, мин		Длительность жизни инфузорий
		приготовления капли	прекращения движения	
1	Рубцовое содержимое + вода			
2	Рубцовое содержимое + + 1,5%-ный раствор молочной кислоты			
3	Рубцовое содержимое + + 0,05%-ный раствор натрия гидроксида			

В заключении и выводах отмечают влияние высокой кислотности и щелочности среды на инфузории. Объясняют, каким образом регулируется реакция среды в рубце.

**Опыт 2.** Оценка нарушения секреторной функции желудка.

Материальное оснащение: бюретки на 25 мл (15); желудочный сок от здорового животного (150 мл); желудочный сок от каждого больного животного (150 мл); спиртовой 0,5%-ный раствор диметиламиноазобензола (10 мл); 0,1 н. раствор гидроксида (0,1 моль/л) (100 мл); 1%-ный спиртовой раствор фенолфталеина (10 мл); раствор натрия ализаринсульфоната (10 мл); молочно-ацетатная смесь (500 мл).

**П о с т а н о в к а   о п ы т а .** Нарушение желудочной секреции оценивают по показателям кислотности и ферментативной активности желудочного сока.

**Определение свободной хлористоводородной (соляной) кислоты.** В химический стаканчик вносят 5 мл профильтрованного желудочного сока, добавляют 2—3 капли 0,5%-ного спиртового раствора диметиламиноазобензола и титруют из бюретки раствором натрия гидроксида до появления желтого окрашивания.

Свободная хлористоводородная (соляная) кислота выражается в единицах титра, которые соответствуют количеству миллилитров натрия гидроксида, пошедших на нейтрализацию 100 мл желудочного сока. Поэтому количество миллилитров натрия гидроксида, пошедшее на нейтрализацию 5 мл желудочного сока, умножают на 20.

Например, на титрование 5 мл желудочного сока пошло 2 мл натрия гидроксида. Содержание свободной хлористоводородной кислоты в 100 мл желудочного сока составит  $2 \text{ мл} \cdot 2 = 40$  титрационных единиц.

**Определение общей кислотности.** К порции желудочного сока, в которой определяли количество свободной хлористоводородной кислоты, прибавляют 2—3 капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина. Титруют из бюретки 0,1 н. раствором натрия гидроксида до появления розового окрашивания. Количество миллилитров натрия гидроксида, пошедшее на титрование в первом и втором случаях, суммируют и умножают на 20. Произведение составит общую кислотность в титрационных единицах.

Например, при определении свободной хлористоводородной кислоты пошло 2 мл натрия гидроксида, а при определении общей кислотности израсходовано дополнительно 1 мл. Общая кислотность составит  $(2 \text{ мл} + 1 \text{ мл}) 20 = 60$  титрационных единиц.

**Определение связанной кислоты.** В стеклянный стаканчик вносят 5 мл новой порции профильтрованного желудочного сока и добавляют 2—3 капли индикатора — натрия ализаринсульфоната. Титруют 1 н. (0,1 моль/л) раствором натрия гидроксида до появления фиолетового окрашивания. Количество миллилитров натрия гидроксида умножают на 20. Данный индикатор выявляет все кислореагирующие вещества в желудочном содержимом, за исключением связанной хлористоводородной кислоты. Поэтому для ее определения результат титрования с натрия ализаринсульфонатом вычитают из показателя общей кислотности.

Например, при титровании с натрия ализаринсульфонатом пошло 2,5 мл раствора натрия гидроксида. Кислотность составит 50 единиц  $(2,5 \text{ мл} \cdot 20)$ . При общей кислотности, равной 60 ед., связанная хлористоводородная кислота составит 10 ед.  $(60 - 50)$ .

**Определение ферментативной активности желудочного сока по методу Пятницкого.** Метод основан на створаживании молока с образованием параказеиногена молочно-ацетатной смеси, катали-

зируемой пепсином. В пробирку вносят 0,1 мл желудочного сока. В другую пробирку наливают 5 мл молочно-ацетатной смеси, состоящей из равных объемов свежего молока и ацетатного буфера с рН 5,0 (45 г натрия гидроксида и 92 г ледяной уксусной кислоты растворяют в 1 л дистиллированной воды).

Обе пробирки помещают в водяную баню температурой 35 °С на 5 мин для выравнивания температуры жидкостей в пробирках. Затем молочно-ацетатную смесь быстро переливают в пробирку с желудочным соком, встряхивают и одновременно включают секундомер. Держа пробирку с молочно-ацетатной смесью в бане, следят за моментом появления на стенках пробирки, которую постепенно поворачивают, первых сгустков параказеиногена. В этот момент, указывающий на завершение реакции, выключают секундомер.

За единицу пепсина принимают то его количество, которое свертывает 5 мл молочно-ацетатной смеси за 60 с. Для расчета единиц пепсина 1 мл желудочного сока 60 с делят на число секунд, полученных в опыте, и частное от деления умножают на 10 (так как для опыта брали 0,1 мл желудочного сока).

Например, при исследовании желудочного сока сгустки параказеиногена появились за 30 с. Количество единиц пепсина в этой пробе составит  $(60 : 30) 10 = 20$ .

После ознакомления с методикой определения кислотности и активности ферментов приступают к основным исследованиям. Исследуют не менее двух проб сока. Одна проба — желудочный сок от здорового животного, другая — желудочный сок от особи того же вида с желудочной патологией. В каждой пробе желудочного сока определяют содержание свободной хлористоводородной кислоты, общую кислотность, связанную соляную кислоту и ферментативную активность (по методу Пятницкого). Работу начинают с определения кислотности и ферментативной активности желудочного сока здорового животного, а затем по такой же схеме изучают желудочный сок животных с желудочной патологией.

**О ф о р м л е н и е   п р о т о к о л а   о п ы т а .** Результаты исследования записывают в таблицу 25.

## 25. Показатели кислотности и ферментативной активности у здорового и больного животных

Животное	Кислотность желудочного сока			Ферментативная активность, в единицах пепсина
	свободная НСІ	общая НСІ	связанная НСІ	
1 (здоровое)				
2				
3				

Результаты исследования желудочного сока больных животных сравнивают с показателями, полученными в пробах сока нормальной особи. Делают выводы. В заключении и выводах отмеча-

ют отклонения кислотности и ферментативной активности сока больных животных, возможные нарушения пищеварения и эвакуации корма из желудка.

**Задание 2.** Изучить токсичность экстрактов, полученных из содержимого различных отделов желудочно-кишечного тракта животных.

**Опыт 1.** Влияние экстрактов содержимого желудка и кишечника на поведение мышей.

**Материальное оснащение:** шприцы на 1 мл с иглами (3); экстракт содержимого желудка (10 мл); экстракт содержимого тонкого кишечника (10 мл); экстракт содержимого толстого кишечника (10 мл); подопытные животные: мыши (6).

**Постановка опыта.** Экстракты содержимого желудка и кишечника готовят заранее. Содержимое желудочно-кишечного тракта более токсично у собак после кормления мясом. Его получают из фистул или после усыпления собаки. На 1 часть содержимого желудка, тонкой или толстой кишки берут 10 частей изотонического раствора натрия хлорида. Содержимое перемешивают, оставляют на 24 ч, затем фильтруют и используют в опыте.

Подбирают трех мышей, примерно одинаковых по массе тела. Всем трем мышам внутрибрюшинно вводят по 1 мл экстракта: первой — из содержимого желудка, второй — из содержимого тонкого кишечника, третьей — из содержимого толстого кишечника. Мышей метят краской и помещают под стеклянный колпак или воронку. Наблюдение ведут в течение 30—45 мин.

**Формливание протокола опыта.** Отмечают изменение поведения мышей в зависимости от токсичности разных экстрактов. Делают выводы. Отмечают природу веществ, которые обуславливают токсичность содержимого кишечника.

**Опыт 2.** Влияние экстракта из кала на артериальное давление и дыхание животных.

**Материальное оснащение:** операционные столы для собак (2); наборы хирургических инструментов (2); комплект перевязочного материала (1); ртутные манометры (2); кимографы (2); пневмографы (2); шприцы на 5 мл с иглами (2); экстракт кала (10 мл); подопытные животные: собаки (2).

**Постановка опыта.** Используют экстракт из кала собаки, который более токсичен после кормления животного мясом. Высушенный при комнатной температуре (или при 40 °С) кал взвешивают и смешивают с изотоническим раствором натрия хлорида (на 1 часть кала берут 5—10 частей раствора). Экстракт в течение суток настаивают, а затем фильтруют (лучше при некотором разрежении).

Собаку фиксируют в спинном положении и наркотизируют. На внутренней поверхности бедра готовят операционное поле. Делают разрез кожи и тупым путем отпрепаровывают бедренную арте-

рию, в которую вставляют канюлю и соединяют ее с ртутным манометром для регистрации артериального давления. Под бедренную вену подводят лигатуру. На грудную клетку накладывают манжетку, соединенную с капсулой Маррея для регистрации дыхания. Записав исходные показатели артериального давления и дыхания, в бедренную вену шприцем с иглой вводят 1—2 мл экстракта. Отмечают на кимограмме момент введения экстракта и продолжают записывать артериальное давление и дыхание. Обращают внимание на значительные изменения этих показателей.

**Оформление протокола опыта.** Отмечают исходное состояние собаки и дозу экстракта. Затем в хронологическом порядке записывают изменения артериального давления и дыхания. Зарисовывают кимограмму. Делают выводы. В заключение перечисляют основные ядовитые вещества, содержащиеся в кале.

**Задание 3.** Изучить патогенез расстройств кровообращения и дыхания при вздутии кишечника (метеоризме).

**Опыт 1.** Влияние вздутия кишечника на кровяное давление и дыхание.

**Материальное оснащение:** операционные столы для собак (2); наборы хирургических инструментов (2); комплект перевязочного материала (1); ртутный и водный манометры (2); кимографы (2); пневмографы (2); воздушные насосы (2); 25%-ный раствор (2,08 моль/л) магния сульфата; подопытные животные: собаки (2).

**Постановка опыта.** Собаку фиксируют в спинном положении. Дают неглубокий наркоз. Сонную артерию с помощью канюли соединяют с ртутным манометром, а в бедренную вену вставляют Т-образную канюлю, которую соединяют с манометром, заполненным 25%-ным раствором (2,08 моль/л) магния сульфата. Кровяное давление и дыхание регистрируют на ленте кимографа.

Брюшную полость вскрывают по средней линии таким образом, чтобы был доступ к двенадцатиперстной и прямой кишкам, на которые накладывают лигатуры. В одну из петель кишечника вставляют Т-образную канюлю, соединенную с насосом. Край раны зашивают. В кишечник нагнетают воздух до заметного изменения артериального и венозного давления крови. Обращают внимание на изменение артериального и венозного давления крови, а также на изменение амплитуды и ритма дыхания.

**Оформление протокола опыта.** Записывают ход операции, изменения артериального и венозного давления, дыхания после нагнетания воздуха в кишечник. Зарисовывают кимограмму. Делают выводы. Объясняют механизм изменений кровяного давления и дыхания.

**Опыт 2.** Влияние растяжения отдельной кишечной петли на кровяное давление и дыхание.

**Материальное оснащение:** такое же, как в опыте 1.



Данный опыт проводят для изучения механизма влияния растяжения кишечника на кровяное давление и дыхание. Используют собаку, подготовленную к предыдущему эксперименту.

У собаки из брюшной полости через разрез извлекают наружу одну кишечную петлю, в которую вставлена Т-образная канюля. На кишку на 35—40 см каудально и краниально от канюли накладывают две лигатуры. Края разреза соединяют зажимами. Регистрируют артериальное давление в сонной артерии и венозное давление в бедренной вене. Записывают дыхание на ленте кимографа. Затем накачивают воздух в кишечную петлю и регистрируют изменения кровяного давления и дыхания. Обращают внимание на изменение поведения собаки.

**Оформление протокола опыта.** Зарисовывают кимограмму с отметкой момента растяжения отдельной петли кишечника, которая находится вне брюшной полости. Делают выводы о влиянии метеоризма на артериальное давление и дыхание.

**Опыт 3.** Влияние ишемии кишечника на кровяное давление и дыхание.

**Материальное оснащение:** такое же, как в опыте 1.

Опыт проводят на этой же собаке для выяснения роли ишемии кишечника в патогенезе метеоризма. У собаки отпрепаровывают три крупные ветви мезентериальной артерии, а коллатерали соседних сосудов перевязывают, чтобы исключить восстановление кровообращения. Записывают значения исходного артериального давления и дыхания, а затем зажимают клеммами отпрепарованные ветви мезентериальной артерии (рис. 42). Развивается ишемия соответствующего участка петли кишечника и изменяются артериальное давление и дыхание.

**Оформление протокола опыта.** Зарисовывают кимограмму с отметкой момента зажатий ветвей мезентериальной артерии. Делают выводы о роли ишемии в патогенезе метеоризма.

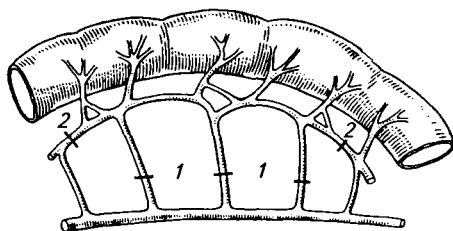


Рис. 42. Схема перевязки ветвей мезентериальной артерии (1) и их коллатералей (2) для воспроизведения ишемии кишечной петли

## ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

1. Формы нарушения аппетита и жажды. 2. Последствия булимии и анорексии. 3. Формы расстройства пищеварения в полости рта. 4. Патологические процессы, затрудняющие пережевывание корма. 5. Влияние гиперсаливации на пищеварение. 6. Причины и последствия нарушения глотания. 7. Причины и последствия нарушения проходимости пищевода. 8. Типы нарушения желудочной секреции. 9. Изменения эвакуации содержимого из желудка при гиперсекреции и гиперцидитасе. 10. Механизм ускорения эвакуации содержимого из желудка в двенадцатиперстную кишку при ахилии. 11. Механизм рвоты и значение ее для организма. 12. Причины, патогенез и проявления расстройств пищеварения в преджелудках жвачных. 13. Нарушения пищеварения в кишечнике при непоступлении сока поджелудочной железы и желчи. 14. Причины и механизмы нарушения пристеночного пищеварения в кишечнике. 15. Нарушение пищеварения и всасывания в кишечнике при резком продвижении содержимого. 16. Причины и патогенез кишечной непроходимости. 17. Кишечная аутоинтоксикация.

## ЗАДАЧИ

1. При анализе содержимого преджелудков у восьми коров, выборочно взятых из молочного стада, было обнаружено следующее соотношение летучих жирных кислот: уксусная кислота  $57 \pm 2,4 \%$ , пропионовая —  $18 \pm 1,6$ , масляная кислота  $25 \pm 0,8 \%$ . О чем свидетельствует подобное соотношение летучих жирных кислот в преджелудках? Какие могут быть последствия подобного состояния, можно ли их предупредить и как это сделать?

2. У рабочих лошадей, содержащихся в конюшне, было замечено появление необычного, извращенного аппетита: они грызли деревянные кормушки, поедали штукатурку, кору деревьев и другие малосъедобные корма. Как называют такую патологию и как ее профилактировать?

3. При выпойке новорожденных телят в хозяйстве используют ведра, откуда приучают их пить молозиво, молоко, заменитель цельного молока. Сосковые поилки не применяют. Каких последствий можно ожидать при подобном кормлении молодняка? В чем состоят преимущества использования сосковых поилок, предназначенных для телят?

4. У свиней в период интенсивного откорма, а также у 6—12-недельных поросят в крупных промышленных комплексах нередко обнаруживают эрозии и язвы слизистой оболочки желудка. Какие причины могут привести к возникновению язвенной болезни у свиней? Как можно объяснить механизм ее развития?

5. В стаде коров у отдельных особей замечено постоянное вытекание слюны из ротовой полости. Как можно назвать такую форму нарушения слюноотделения и при каких болезнях она встречается?

6. У большой лошади в желудочном соке не обнаружено свободной и связанной хлористоводородной кислоты. Как называется такое состояние и каким образом оно влияет на эвакуацию содержимого из желудка?

7. У агрессивной собаки на секции в желудке обнаружены несъедобные предметы (обломки изделий из пластмассы). Как называется такая форма нарушения аппетита, при каких заболеваниях она встречается?

8. У коровы обнаружена атония рубца. Врач посоветовал практиканту обследовать сетку и сычуг. Какая функциональная связь имеется между этими камерами желудка?

9. У собаки с явлениями запора в желудочном соке обнаружено значительное увеличение содержания свободной хлористоводородной кислоты и общей кислотности. Какова функциональная связь между этими признаками? Как изменится эвакуация содержимого желудка в двенадцатиперстную кишку при такой секреции желудочного сока?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Роль желудочно-кишечных гормонов в патологии системы пищеварения.
2. Микрофлора преджелудков, ее влияние на состояние и продуктивность жвачных.
3. Этиология и патогенез недостаточности пищеварения у телят.
4. Эволюция представлений об этиологии и патогенезе язвенной болезни.

## ЛИТЕРАТУРА

Уголев А. М., Баженов А. Н., Щербаков Г. Г. Рекомендации по профилактике и лечению острых желудочно-кишечных болезней у новорожденных телят. — Л.: ЛВИ, 1982.

Уголев А. М. Физиология и патология пристеночного (контактного) пищеварения. — Л.: Наука, 1967.

Урбан В. П., Найманов И. Л. Болезни молодняка в промышленном животноводстве. — М.: Колос, 1984.

Физиология и патофизиология желудочно-кишечного тракта/С. Р. Блум и др. Пер. с англ. — М.: Медицина, 1989.

Чепелев Н. А. Диетическое питание молодняка сельскохозяйственных животных. — Курск, 1998.

## Т е м а 17

### ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ПЕЧЕНИ

**Ц е л ь з а н я т и й.** Изучить последствия нарушений функций печени у различных животных.

**Задание.** Изучить влияние составных частей желчи на различные функции животного организма.

**О п ы т 1.** Влияние желчи на деятельность сердца лягушки.

**М а т е р и а л ь н о е о с н а щ е н и е:** кимографы (15); рычажки Энгельмана (15); препаровальные дощечки (15); кюветы (15); булавки (105); глазные пипетки (15); глазные ножницы (15); анатомические пинцеты (15); 10%-ный раствор этилового спирта (300 мл); свежеполученная желчь (25 мл); 0,65%-ный раствор натрия хлорида (500 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**П о с т а н о в к а о п ы т а.** Подопытную лягушку погружают на 3—6 мин в 10%-ный раствор этилового спирта. После наступления наркоза животное помещают на препаровальную дощечку брюшком вверх и фиксируют булавками. Над грудной костью срезают кожный лоскут, часть кости иссекают и, вскрыв перикард, выводят сердечную мышцу наружу. На верхушку сердца накладывают серфин. Тонкой нитью соединяют его с рычажком Энгельмана, писчик которого подводят к барабану кимографа.

Регистрируют сокращения миокарда. Обращают внимание на частоту сокращений и их амплитуду. Пипеткой наносят на работающую сердечную мышцу 3—4 капли бычьей или свиной желчи, предварительно помещенной на 30 мин в водяную баню

при температуре 55—60 °С. Через 3 мин на отмытую физиологическим раствором сердечную мышцу наносят натуральную желчь — сначала в разведении 1 : 10, потом 1 : 5 и 1 : 2, а затем 3 : 4 — капли цельной желчи. Каждый раз после нанесения раздражителя сердце отмывают изотоническим раствором натрия хлорида. По меняющейся частоте сокращений миокарда и их амплитуде судят о влиянии желчи на функциональную активность сердца.

Обращают внимание на отсутствие эффекта торможения деятельности сердца под влиянием предварительно подогретой желчи, так как в условиях повышенной температуры желчные кислоты разрушаются. Под действием нативной желчи развивается четко выраженная брадикардия, вплоть до полного прекращения деятельности сердца.

**Оформление протокола опыта.** Описывают методику проведения эксперимента. Отмечают данные о сердечной деятельности лягушки в исходном состоянии после воздействия инактивированной и нативной желчью. Анализируют результаты эксперимента. Делают выводы.

**Опыт 2.** Влияние желчи на функциональную активность спинного мозга лягушки.

**Материальное оснащение:** штативы (15); стаканчики (15); препаровальные иглы (15); пинцеты (15); секундомеры (6); фильтровальная бумага (50 г); 0,5-, 1,0- и 1,5%-ные растворы хлористоводородной кислоты (по 30 мл); подопытные животные: лягушки (15).

**Постановка опыта.** Спинальную обездвиженную лягушку закрепляют на штативе в висячем положении. Определяют время рефлекса на раздражение кожи бедра хлористоводородной кислотой разной концентрации. С этой целью полоску фильтровальной бумаги смачивают 0,5%-ным раствором кислоты и накладывают на кожу бедра. Глядя на секундомер, устанавливают время от начала раздражения до ответной двигательной реакции. Пинцетом снимают бумагу, лапку тщательно обмывают, опуская ее несколько раз в сосуд с водой. Затем аналогичным способом последовательно определяют время рефлекса на раздражение кожи бедра хлористоводородной кислотой 1,0- и 1,5%-ной концентрации.

После установления времени рефлекса на кислотный раздражитель разной силы под кожу спины, в лимфатический мешок, вводят 2 мл свежеполученной желчи. Спустя 15 мин вновь определяют время кислотного рефлекса на противоположной лапке в той же последовательности, как в исходном состоянии.

**Оформление протокола опыта.** Записывают последовательность проведения эксперимента. Полученные данные заносят в таблицу 26.

## 26. Изменение времени кислотного рефлексa кожи бедра лягушки

Концентрация HCl, %	Время двигательного рефлексa на раздражение кожи, с	
	в исходном состоянии	после введения желчи
0,5		
1,0		
1,5		

Анализируют результаты опыта. Делают выводы о влиянии желчи на нервную систему.

**Опыт 3.** Поведенческие реакции лягушек при желчной интоксикации.

**Материальное оснащение:** большие стеклянные воронки (16); кюветы (8); шприцы на 2 мл с иглой (8); желчь (5 мл); раствор Рингера для холоднокровных (15 мл); подопытные животные: лягушки (16).

**Постановка опыта.** Берут двух однополых, близких по массе лягушек. Каждую помещают под стеклянную воронку, поставленную в кювету. Через 5 мин, в течение которых наблюдают за животными, одной лягушке в спинной лимфатический мешок вводят 2 мл свежеполученной желчи в разведении 1 : 2, второй лягушке в тот же лимфатический мешок вводят 2 мл раствора Рингера (для холоднокровных).

В последующие 20 мин наблюдают за поведением обоих животных. Обнаруживают, что уже спустя 10—15 мин подопытная лягушка, подвергнутая желчной интоксикации, перестает нормально двигаться, становится вялой, слабо реагирует на болевые раздражения (укол, шипок, сдавливание), будучи перевернутой на спину, не меняет своего положения. Состояние подопытного животного сравнивают с поведением контрольной лягушки, которой подкожно вводили раствор Рингера.

**Оформление протокола опыта.** Записывают условия проведения опыта. Дают характеристику поведенческим реакциям подопытной и контрольной лягушек. Объясняют механизм обнаруженных явлений. Делают выводы о влиянии желчной интоксикации на общее состояние животного.

**Опыт 4.** Определение присутствия в моче составных частей желчи.

**Материальное оснащение:** сталагмометры (15); колбы на 50 мл (30); штативы для пробирок (15); пробирки (60); порошок серого цвета (1,5 г); дистиллированная вода (30 мл); 2%-ный раствор метиленового синего (5 мл); раствор Люголя (30 мл); 5%-ный раствор сульфата меди (15 мл); хлороформ (60 мл); хлористоводородная кислота (125 мл); серная кислота (10 мл); эфир (120 мл).

**Постановка опыта.** В колбочки берут мочу от здорового животного и животного с клиническими признаками желтухи. Исследуют пробы на присутствие в моче желчных кислот, желчных пигментов и уробилина.

Наличие в моче желчных кислот определяют одним из следующих способов:

1) в пробирки наливают мочу, разводят ее до относительной плотности 1,015 и оставляют стоять в штативе в течение 20—25 мин. Затем осторожно насыпают порошок серого цвета. Отмечают, тонет ли порошок в пробах мочи или остается на поверхности. Если порошок не тонет, пробу считают отрицательной. Если же он погружается в жидкость, то проба положительная. Желчные кислоты изменяют поверхностное натяжение при концентрации более 0,01 %;

2) берут по 10 мл мочи от контрольного и подопытного животных. Используя сталагмометр, определяют количество капель в этих 10 мл мочи. Если в моче больного животного присутствуют желчные кислоты, то число капель в искомом объеме будет больше, чем в пробе мочи от здорового животного;

3) используют три пробирки. В одну наливают 3 мл дистиллированной воды, во вторую — 3 мл мочи от здорового животного, в третью — 3 мл мочи от подопытного животного. В каждую из них добавляют по две капли 0,2%-ного раствора метиленового синего. Если в пробе мочи есть желчные кислоты, появляется зеленое окрашивание.

Присутствие в моче билирубина определяют пробой Розина. Для этого на 3—5 мл мочи, налитой в пробирку, осторожно наслаивают раствор Люголя (йод кристаллический 1,0, йодид калия 2,0, дистиллированная вода 17,0). При наличии желчных пигментов в испытуемой моче на границе между слоями жидкостей появляется зеленое кольцо. Следует помнить, что моча здоровых животных содержит весьма малые количества билирубина, не определяемые указанной пробой.

Для установления в моче уробилина ставят реакцию Богомоллова (1) или реакцию Флоренса (2).

1. В пробирки приливают по 5 мл испытуемой мочи и добавляют в каждую 0,5 мл 5%-ного раствора сульфата меди. Если моча помутнеет, к ней приливают несколько капель концентрированной хлористоводородной кислоты до просветления жидкости. Пробы оставляют в штативе на 3—5 мин, затем добавляют по 2 мл хлороформа. Пробирки закрывают пробками, содержимое тщательно взбалтывают и оставляют в штативе для отстаивания. При наличии в моче уробилиновых тел хлороформ окрашивается от красно-розового до медно-красного цвета.

2. В пробирки наливают по 5 мл мочи, подкисляют ее тремя каплями серной кислоты, затем добавляют по 4 мл эфира. Закрывают пробирки пробками и их содержимое тщательно в течение 3—5 мин взбалтывают и ставят в штатив. В две другие пробирки наливают по 2 мл серной кислоты. Затем из первых двух пробирок отсасывают отслоившийся эфир и наслаивают на хлористоводородную кислоту. На положительную реакцию указывает образование кольца красного цвета на границе двух жидкостей.

Оформление протокола опыта. Кратко описывают использованные методы. Отмечают результаты проведенного исследования. Обсуждают полученные данные.

*Опыт 5.* Антитоксическая и барьерная функции печени.

Материальное оснащение: операционные столы для собак (2); электрокимографы с удлинителями (2); ртутные манометры (2); отметчики времени (2); хирургические наборы (2); сосудистые канюли (4); шприцы на 2 мл с иглами (2); шприцы на 20 мл с иглами (2); стеклянные цилиндры (2); полиэтиленовые зонды (2); ватно-марлевые тампоны (26); 10%-ный раствор гексенала (30 мл) или 2%-ный раствор натрия тиопентала (60 мл); раствор адреналина (1 : 10000) (7 мл); 2%-ный раствор трипанового синего (10 мл); 5%-ный спиртовой раствор йода (20 мл); подопытные животные: собаки (2).

**Постановка опыта.** Собаке массой 12—18 кг в вену сафена вводят 10%-ный раствор гексенала из расчета 50 мг на 1 кг массы тела или 2%-ный раствор натрия тиопентала из расчета 30 мг на 1 кг массы тела. Наркотизированное животное кладут на операционный стол и фиксируют животом вверх. В области шеи, на животе ниже мечевидного отростка и в паховой области тщательно выстригают волосы, поле операции смазывают 5%-ным раствором йода. Обнажают бедренную вену, вводят в нее и фиксируют полиэтиленовую канюлю. Рассекают кожу на шее, отпрепаровывают одну из сонных артерий, ввязывают в нее сосудистую канюлю, соединенную системой трубок с ртутным манометром. Длинным разрезом (до 20 см) по белой линии живота вскрывают брюшную полость. Петли кишечника отодвигают влево, находят крупную вену портальной системы.

Регистрируют исходное артериальное давление, в воротную вену шприцем вводят 2 мл раствора адреналина (1 : 10 000), подогретого до температуры тела. Момент инъекции отмечают на киограмме. Обращают внимание на то, что после инъекции адреналина в воротную вену артериальное давление не изменяется, что указывает на инактивацию гормонального препарата печеночной тканью. При продолжающейся регистрации уровня артериального давления в бедренную артерию вводят 2 мл раствора адреналина (1 : 1000) и получают классический адреналиновый эффект: быстро и значительно повышается давление в сонной артерии, возрастает ударный объем сердца, увеличивается частота сердечных сокращений.

Затем переходят ко второй части опыта. Перевязывают сонную артерию ниже места введения канюли, удаляют ее из сосуда, накладывают швы на мышцы шеи и на кожу. Ориентируясь по желчному пузырю, отыскивают желчный проток. Близ впадения в двенадцатиперстную кишку его перевязывают, центральный конец косо надрезают и вводят полиэтиленовый зонд. Для фиксации накладывают 2—3 лигатуры, а противоположный конец выводят из брюшной полости для контроля за выделением желчи. Собрав в стеклянную емкость некоторое количество желчи, обращают внимание на

ее светло-желтую окраску. В бедренную вену через канюлю вводят 5 мл 2%-ного раствора трипанового синего. Наблюдают за желчью, выделяемой из желчного протока, и вскоре обнаруживают изменение ее окраски. В составе желчи начинает выделяться трипановая синь, что свидетельствует о задержке ее печенью и выделении в кишечник для последующего выведения из организма.

**Оформление протокола опыта.** Кратко описывают подготовку к эксперименту. Обрабатывают и схематично зарисовывают кимограмму. Отмечают изменение уровня артериального давления при различных путях введения адреналина. Объясняют причину неодинакового влияния адреналина на сердечно-сосудистую систему. Устанавливают время появления трипановой сини в желчи, объясняют механизм ее выведения. Делают выводы об антикоагулянтной и барьерной функциях печени.

**Опыт 6.** Влияние желчи на клеточные элементы красной крови.

**Материальное оснащение:** пробирки (30); штативы для пробирок (8); центрифуги (2); глазные пипетки (15); колбы на 200 мл (2); 0,9%-ный раствор натрия хлорида (50 мл); раствор гепарина (5000 ЕД в 1 мл) (3 мл); желчь (30 мл); кровь (300 мл).

**Постановка опыта.** Для занятий подготавливают кровь, взятую из яремной вены лошади или коровы, в которую добавляют антикоагулянт (гепарин), а также свежеполученную желчь. Для исследования в две пробирки наливают по 10 мл крови. Затем в одну из них добавляют 1 мл желчи, в другую — 1 мл изотонического раствора натрия хлорида. Пробирки закрывают пробками, содержимое перемешивают и ставят в штатив на 5 мин. После этого кровь центрифугируют в течение 5 мин при 3000 мин<sup>-1</sup>. Вынув пробки из центрифуги, обнаруживают, что в первой пробирке, куда была добавлена желчь, содержимое окрашено в ярко-красный цвет вследствие гемолиза эритроцитов, во второй пробирке плазма крови соломенно-желтого цвета, а в осадке находятся форменные элементы крови.

**Оформление протокола опыта.** Записывают условия проведения эксперимента и его результаты. Делают вывод о влиянии желчи на эритроциты.

## **ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ**

1. Методы изучения недостаточности функций печени. 2. Общая этиология поражений печени. 3. Гепатиты. 4. Жировая дистрофия печени (гепатоз). 5. Липотропные факторы, предупреждающие жировую инфильтрацию печени. 6. Гипертрофический и атрофический цирроз печени. 7. Нарушение обмена углеводов, белков, жиров, минеральных веществ и воды при недостаточности печени. 8. Расстройства витаминного обмена при поражении печени. 9. Портальная гипертензия. 10. Желтуха. 11. Особенности пигментного обмена при механической, паренхиматозной и гемолитической желтухах. 12. Желчно-каменная болезнь. 13. Нарушения пищеварения при ахолии. 14. Печеночная кома.



## ЗАДАЧИ

1. У больной собаки обнаружен асцит. Какое заболевание печени осложняется асцитом? Каков механизм появления большого количества транссудата в брюшной полости? Какой прогноз болезни?

2. Собаке в условиях эксперимента оперативным путем создали соустье между задней полостью и воротной венами, последнюю выше соустья перевязали. Послеоперационное состояние животного было хорошим, собаку более месяца кормили овсяной кашей. После же включения в рацион мяса собака быстро погибла. Объясните патогенез и причину смерти подопытного животного. Какие выводы можно сделать из проведенного эксперимента?

3. Приехав по вызову в хозяйство, ветеринарный врач обнаружил трех больных коров со сходными признаками: повышенная температура, гемоглобинурия, сниженное потребление корма, видимые слизистые оболочки желтушны, с точечными кровоизлияниями. Назовите вид желтухи у больных коров. Каков механизм окрашивания тканей в желтый цвет в данном случае?

4. У больной кошки выявлены интенсивное окрашивание слизистых оболочек и кожи в желтый цвет, обесцвеченность фекальных масс. Какие нарушения пищеварения характеризуют ахолический синдром? Каково состояние гемостаза при механической желтухе и какие причины могут ее вызвать?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Влияние токсического поражения печени на генеративную функцию.
2. Жировая дистрофия печени как универсальная реакция органа на повреждение.
3. Этиология и патогенез желчно-каменной болезни.
4. Последствия функциональной недостаточности печени.

## ЛИТЕРАТУРА

Байматов В. Н., Чумаков В. Ю. Патологическая физиология органов и тканей у животных. — Абакан, 1998.

Гичев Ю. П. Печень: адаптация, экология. — Новосибирск: Наука, 1993.

Дунаевский О. А. Дифференциальная диагностика заболеваний печени. — Л.: Медицина, 1985.

Успехи гепатологии/Под ред. А. Ф. Блюгера. — Рига: РМИ, 1982.

Уша Б. В. Ветеринарная гепатология. — М.: Колос, 1979.

## Тема 18

### ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ПОЧЕК

**Цель занятий.** Изучить экстраренальные и ренальные факторы, вызывающие расстройства выделительной функции почек, их последствия.

**Задание 1.** Изучить зависимость мочеотделения от органного (почечного) и системного кровообращения.

**Опыт 1.** Изменение диуреза при пептонной гипотензии.

**Материальное оснащение:** операционные столы для собак (2); наборы хирургических инструментов (2); набор тампонов и салфеток (1); ртутные манометры (2); кимографы (2); градуированные пробирки (6); штативы для пробирок

(2); секундомеры (2); измерительные пипетки на 1 и 5 мл (4); шприцы с иглами на 10 мл (2); 10%-ный раствор пептона (20 мл); подопытные животные: собаки (2).

**П о с т а н о в к а   о п ы т а.** Собаку фиксируют в спинном положении и наркотизируют. Брюшную полость вскрывают разрезом по белой линии, несколько отступив от лонного бугорка, желудок и кишечник отодвигают в сторону и фиксируют увлажненным полотенцем. Соблюдая осторожность, выделяют и после анестезии надрезают оба мочеточника, вставляют мочеотводящие канюли. Последние через резиновые трубочки соединяют со стеклянными трубочками, оканчивающимися устройством для регистрации числа капель, которые подсчитывают визуально, или измеряют объем мочи, собранной за 3 мин. Лучше использовать контактное устройство для автоматического подсчета капель (рис. 43).

Бедренную артерию соединяют с ртутным манометром, а в бедренную вену вставляют канюлю для введения пептона. Записывают исходное артериальное давление и количество мочи, которое выделилось отдельно из правого и левого мочеточников за 3 мин. Затем в бедренную вену шприцем вводят 10 мл пептона. Непрерывно регистрируют артериальное давление и определяют количество мочи каждые 3 мин (меняют пробирки) в течение 0,5 ч.

**О ф о р м л е н и е   п р о т о к о л а   о п ы т а.** Зарисовывают кривую записи артериального давления с отметкой момента введения пептона. Затем сравнивают объемы мочи, полученной из обоих мочеточников до введения пептона, в момент наибольшего падения артериального давления и после восстановления его уровня. Делают выводы и объясняют механизм изменения мочеотделения при гипотензии.

**О п ы т 2.** Изменение диуреза при артериальной гипертензии.

**М а т е р и а л ь н о е   о с н а щ е н и е:** наборы хирургических инструментов и перевязочного материала (2); операционные столы для собак (2); ртутные манометры (2); кимографы (2); штативы для пробирок (2); пробирки (12); шприцы на 2 мл с иглами (2); 0,1%-ный раствор (4,5 ммоль/л) адреналина (2 мл); подопытные животные: собаки (2).

**П о с т а н о в к а   о п ы т а.** У собаки выводят мочеточники, укрепляют в них канюли и регистрируют число капель мочи, выделяющейся из мочеточников, как описано в предыдущем опыте.

Артериальное давление записывают через канюлю, укрепленную в бедренной артерии. Установив исходные показатели артериального давления и объем мочи, выделенной за 3 мин, в бедренную вену вводят 0,2—0,3 мл раствора адреналина. Продолжают собирать мочу каждые 3 мин до восстановления исходного уровня артериального давления.

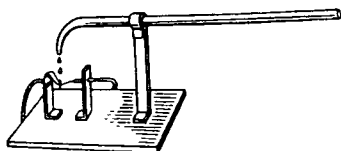


Рис. 43. Контактное устройство для подсчета капель мочи

**Оформление протокола опыта.** Зарисовывают кривую изменения артериального давления после введения адреналина, полученную на кимограмме, и сравнивают объем мочи, собранной в период опыта и перед экспериментом. Делают выводы и объясняют механизм изменения диуреза при адреналиновой гипертензии.

**Опыт 3.** Изменение диуреза при ишемии почки.

**Материальное оснащение:** наборы хирургических инструментов и перевязочного материала (2); штативы для пробирок (2); пробирки (12); секундомеры (2); подопытные животные: собаки (2).

**Постановка опыта.** Собаку фиксируют на операционном столе в спинном положении и наркотизируют. Брюшную стенку разрезают по белой линии. Осторожно отпрепаровывают мочеточники и вставляют в них канюли для сбора мочи. Под правую почечную артерию подводят лигатуру, концы которой пропускают через стеклянную трубку. Брюшную полость закрывают. Затем устанавливают исходный фон мочеотделения — объем мочи (число капель) отдельно для каждого мочеточника за 3 мин. После этого почечную артерию пережимают лигатурой на 5—10 мин. В этот период рассчитывают количество мочи, выделенной из каждого мочеточника за 3 мин. Объем мочи определяют повторно и после освобождения артерии в течение 10—15 мин.

В этом опыте можно провести исследования на содержание белка в моче (методику см. ниже) из правого и левого мочеточников отдельно. Исследуют исходные пробы, а также пробы, полученные в момент ишемии почки и некоторое время спустя после нее.

**Оформление протокола опыта.** Записывают результаты измерения объемов мочи и содержания белка отдельно для каждого мочеточника до опыта, в процессе опыта, после него. Делают выводы. Объясняют механизм изменения диуреза и состава мочи при ишемии почки. Обращают внимание на время, необходимое для восстановления функции правой почки после перенесенной ишемии.

**Опыт 4.** Изменение диуреза при венозной гиперемии почки.

**Материальное оснащение:** наборы хирургических инструментов и перевязочного материала (2); штативы для пробирок (2); пробирки (12); секундомеры (2); подопытные животные: собаки (2).

**Постановка опыта.** Собаку подготавливают так же, как и в опыте с ишемией почки. Лигатуру подводят под левую почечную вену, а не под артерию. Подготовка завершается сбором и определением объема (подсчета числа капель) мочи за 3 мин в исходном состоянии. Мочу собирают отдельно из каждого мочеточника. Затем перетягивают вену, затрудняя отток крови от левой почки на 5—10 мин. Объем мочи устанавливают повторно в период зажатия вены и спустя 20—30 мин после него.

Оформление протокола опыта. Кратко описывают подготовку к опыту. Результаты измерения объема мочи в течение опыта заносят в таблицу 27.

## 27. Изменение диуреза у собаки при венозной гиперемии левой почки

Почка	Объем мочи за 3 мин			
	до опыта	через 10 мин	через 20 мин	через 30 мин

Левая  
Правая

При анализе таблицы сравнивают объемы мочи, полученные через 10, 20, 30 мин после зажатия левой почечной вены, с объемом, установленным до опыта.

**Опыт 5.** Изменение диуреза при гидремии (олигоцитемической гиперволемии).

**Материальное оснащение:** наборы хирургических инструментов и перевязочного материала (2); манометры ртутные (2); кимографы (2); штативы для пробирок (2); пробирки (12); аппараты Боброва (2); изотонический раствор натрия хлорида (1 л); подопытные животные: собаки (2).

**Постановка опыта.** Собаку подготавливают так же, как и в опыте по изучению влияния гипотензии на диурез (опыт 1). К канюле с краником, укрепленной в бедренной вене, подсоединяют аппарат Боброва, заполненный изотоническим раствором натрия хлорида, подогретым до 38 °С. Установив исходные показатели артериального давления и объема (числа капель) мочи, выделенной из каждого мочеточника за 30 мин, приступают к эксперименту. Открывают краник в канюле на соединение с аппаратом Боброва. В последний баллончиком нагнетают воздух и наблюдают за тем, как раствор из аппарата поступает в бедренную вену. Объем раствора около 5 % от массы тела, т. е. собаке массой 10 кг вводят около 500 мл раствора. По мере поступления раствора собирают мочу и измеряют ее объем (подсчитывают число капель) за каждые 3 мин в течение 0,5 ч.

**Оформление протокола опыта.** Отмечают исходные значения артериального давления и объема мочи, собранной за 3 мин. Эти показатели регистрируют в процессе введения изотонического раствора натрия хлорида. Делают выводы об изменении диуреза в процессе развития олигоцитемической гиперволемии. Объясняют механизм изменения количества выделяемой мочи.

**Опыт 6.** Влияние болевого раздражения на диурез.

**Материальное оснащение:** павловские станки для фиксации собак (2); электростимуляторы (2); пипетки на 1 и 5 мл (4); штативы для пробирок (2); пробирки (8); секундомеры (2); подопытные животные: собаки с выведенными наружу мочеточниками (2).

**Постановка опыта.** Бодрую собаку, у которой заранее выведены наружу мочеточники (см. ниже), помещают в павловский станок. К коже в области устья мочеточников прикрепляют небольшие воронки с подвешенными к ним пробирками (колбочками) для сбора мочи. На коже бедра укрепляют электроды электростимулятора. Подготовка к опыту заканчивается тем, что в течение 5 мин собирают мочу и устанавливают ее объем. Затем подвешивают пробирки и в течение нескольких секунд раздражают кожу электрическим током (раздражение должно быть достаточной силы). Мочу повторно собирают и определяют ее объем каждые 5 мин после нанесения раздражения в течение 20—30 мин.

**Методика операции по выведению мочеточников наружу по Павлову—Орбели.** Собаку (самку) фиксируют в спинном положении на вивисекционном столе. Наркотизируют. Брюшную полость вскрывают, делая разрез по белой линии на 4 см краниальнее лонного бугорка почти до пупка. Мочевой пузырь извлекают и через троакар освобождают от мочи. На шейку мочевого пузыря накладывают лигатуру. Затем мочевой пузырь вскрывают и иссекают, оставив два небольших лоскута, каждый с устьем мочеточника в середине. Брюшную стенку справа и слева от разреза прокалывают троакаром. Через отверстия выводят мочеточники с участками мочевого пузыря и нитками прикрепляют к брюшинно-мышечному слою и коже. Брюшную стенку зашивают и смазывают спиртовым раствором йода. У оперированных собак необходимо ежедневно мыть и смазывать вазелином кожу живота в области выхода мочеточников.

**Оформление протокола опыта.** Записывают объемы мочи, собранной перед раздражением и после него. Сравнивают их. Делают выводы. Объясняют механизм изменения диуреза под влиянием болевого раздражения.

**Задание 2.** Изучить изменения количества и состава мочи при поражении почек.

**Опыт 1.** Нарушение диуреза у лягушки при отравлении сулемой.

**Материальное оснащение:** шприцы на 5 мл с иглами (2); шприцы на 1 мл с иглами (2); воронки с сеточками для содержания лягушек и сбора мочи (8); измерительные пипетки на 1 мл (8); дистиллированная вода (40 мл); 1%-ный раствор (36,8 ммоль/л) сулемы (2 мл); подопытные животные: лягушки (8).

**Постановка опыта.** Для опыта подбирают двух или лучше четырех одинаковых по массе лягушек. Всем четырем лягушкам в лимфатический мешок (под кожу спины) вводят по 3 мл дистиллированной воды. Двум лягушкам (подопытным), кроме того, вводят под кожу по 0,05 мл 1%-ного раствора (36,8 ммоль/л) сулемы. Каждое животное помещают в отдельную воронку и ставят в пробирку для сбора мочи. Сверху воронки прикрывают

влажной марлей. Через 1 ч измеряют и сравнивают объем мочи, полученной от контрольных и подопытных лягушек. Для наглядности в каждую пробирку можно внести по капле красящего вещества.

**Формлиение протокола опыта.** Кратко описывают сущность опыта и результаты наблюдения за поведением животных. Сравнивают объемы мочи, выделенные за 1 ч подопытными и контрольными лягушками. Делают выводы и заключение, в котором объясняют механизм нарушения мочеотделения при отравлении сулемой.

**Опыт 2.** Изучение состава мочи у животных с экспериментальным нефритом и «неизвестной» почечной патологией.

**Материальное оснащение:** порции мочи от животных: нормальных (15), с нефритом (15), с почечной патологией (15); наборы реактивов для определения в моче: белка (15), сахара (15), крови (15); аппараты Коварского (6); наборы реактивов для определения мочевины (15); наборы посуды (15).

**Постановка опыта.** Каждый студент получает три порции мочи: от клинически здорового животного, от собаки с экспериментальным нефритом, от больного животного. В каждой порции определяют белок, кровь, сахар, мочевину.

**Методика воспроизведения экспериментального цитотоксического гломерулонефрита у кроликов.** Работа состоит из трех этапов: приготовление антигена, получение нефроцитотоксической сыворотки, воспроизведение гломерулонефрита.

Антиген из почек кролика готовят в стерильных условиях. Кролика умерщвляют обескровливанием. Извлекают обе почки и освобождают от капсулы. Берут корковое вещество, измельчают ножницами в стеклянной чашке и 5—8 раз промывают изотоническим раствором натрия хлорида комнатной температуры. Кусочки почек для обезвоживания помещают на фильтрованную бумагу, а затем взвешивают и переносят в фарфоровую ступку. Ткань тщательно растирают с кварцевым песком (стеклом), добавляя изотонический раствор натрия хлорида, объем которого должен быть в 3 раза больше, чем масса ткани почки. Гомогенизированную ткань переливают в центрифужные пробирки и выдерживают несколько часов в холодильнике или центрифугируют в течение 3 мин при  $1000 \text{ мин}^{-1}$ . После этого гомогенат разделяется на три слоя: верхний — опалесцирующая жидкость, средний — мутная гомогенная жидкость, нижний — зернистый. В качестве антигена используют надосадочную жидкость (верхний и средний слои), которую хранят в холодильнике при температуре  $4^\circ\text{C}$ .

Получение цитотоксической сыворотки состоит в следующем. Утке массой тела 2—2,5 кг внутрибрюшинно вводят антиген по схеме.

Номер инъекции	Доза, мл/кг	Интервал между инъекциями, сут
1	3	—
2	2,5	5
3	3	5
4	3,5	6
5	4	6
6	4,5	7
7	5	7
8	5,5	7

Через 7 сут после последней инъекции антигена утку обескровливают через полую иглу, введенную в подкрыльцовую вену. Кровь собирают в центрифужные пробирки, которые помещают в термостат при 37—38 °С на 1 ч. Затем сгустки крови обводят стеклянной палочкой и пробирки на 2 ч помещают в холодильник для ретракции сгустка. Сыворотку отсасывают и хранят в холодильнике в хорошо закрытых пробирках. Все манипуляции с сывороткой крови, как и с антигеном, проводят в условиях стерильности.

Для воспроизведения нефрита кролику массой 2—2,5 кг внутривенно вводят 6—8 мл нефроцитотоксической сыворотки. Нефрит обычно развивается на вторые—четвертые сутки после введения нефроцитотоксической сыворотки. Для сбора суточной мочи кролика помещают в специальную клетку с коническим дном, закрытым двойной сеткой. Под дно подставляют стеклянную баночку для мочи.

*Определение белка в моче.* Метод основан на пробе Геллера с использованием 50%-ного раствора азотной кислоты. В пробирку наливают 1—2 мл азотной кислоты и наслаивают равное количество профильтрованной мочи. Если в моче содержится белок, то на границе раздела жидкостей появляется белое кольцо. Время появления кольца и его плотность зависят от количества белка в моче. Появление нитевидного кольца на третьей минуте соответствует 0,033 % белка в моче. Если нитевидное кольцо образуется сразу после наслоения мочи, то последнюю разводят в 2 раза дистиллированной водой или изотоническим раствором натрия хлорида и повторяют пробу. При образовании широкого или плотного кольца мочу разводят в 4 или 8 раз. Возможно и большее разведение, если кольцо появляется раньше третьей минуты после наслоения.

Для расчета количества белка в моче 0,033 % умножают на значение разведения мочи, которое дает появление нитевидного кольца на третьей минуте. Количество белка составит:  $0,033 \% \cdot 16 = 0,528 \%$ , или 0,53 %.

*Обнаружение сахара в моче.* Для постановки пробы Гайнеса предварительно готовят реактив, в который входят три раствора:

13,3 г кристаллического (х. ч. или ч. д. а.) сульфата меди растворяют в 400 мл дистиллированной воды (раствор А), 50 г калия гидроксида растворяют в 400 мл дистиллированной воды (раствор Б), 15 г глицерина (х. ч. или ч. д. а.) растворяют в 200 мл дистиллированной воды (раствор В).

Раствор А смешивают с раствором Б и сразу же добавляют раствор В. Готовый реактив может длительно сохраняться в холодильнике. К 3—4 мл реактива добавляют 8—12 капель мочи, кипятят на плameni или ставят в кипящую водяную баню. При наличии сахара в моче жидкость окрашивается в желтый или красный цвет и образуется осадок.

*Обнаружение крови в моче.* Для постановки пробы с бензидином предварительно готовят эфирную вытяжку мочи, для чего берут 10—15 мл перемешанной нативной мочи, добавляют 2 мл ледяной уксусной кислоты, 8 мл этилового эфира и одну каплю спирта. Жидкость взбалтывают и дают отстояться.

К 2 мл эфирной вытяжки мочи добавляют 5 капель 5%-ного раствора бензидина в ледяной уксусной кислоте и 8—10 капель перекиси водорода. При наличии крови в моче раствор окрашивается в зеленый цвет.

Проба с гваяколовой смолой: к 2 мл эфирной вытяжки мочи добавляют 6 капель спиртового свежеприготовленного насыщенного раствора гваяколовой смолы и 8 капель свежего пероксида водорода. При положительной реакции через 5—8 мин появляется синее окрашивание.

Фенолфталеиновую пробу Колло ставят следующим образом. Предварительно готовят три реактива: 2 г уксусной кислоты растворяют в 98 г спирта-ректификата (реактив 1), 2 г фенолфталеина, 20 г калия гидроксида, 10 г металлического цинка в порошке заливают 100 мл дистиллированной воды и кипятят до обесцвечивания (реактив 2), 3%-ный раствор пероксида водорода (реактив 3).

В пробирку наливают 2 мл мочи и 2 мл реактива 1, прибавляют 20 капель реактива 2 и вносят 2—3 капли реактива 3. Малиновое окрашивание смеси указывает на присутствие гемоглобина в моче.

*Определение мочевины в аппарате Коварского.* Метод основан на разложении мочевины бромноватистой щелочью с выделением газообразного азота, по объему которого определяют содержание мочевины.

Подготавливают аппарат Коварского (рис. 44) к работе. Кран левого колена открывают, а правый трехходовой кран устанавливают на соединение с левым коленом. В правое колено наливают насыщенный раствор натрия хлорида до уровня, расположенного несколько выше крана левого колена. Левый кран закрывают, а жидкость над ним отсасывают пастеровской пипеткой с грушей. Затем кран правого колена устанавливают на соединение с отводной трубкой, через которую спускают солевой раствор из правого



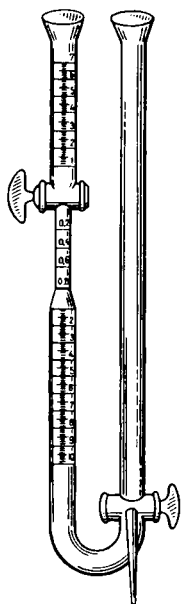


Рис. 44. Аппарат Коварского

колена более чем наполовину. После этого кран правого колена поворачивают на соединение с левым коленом. В таком положении аппарат готов к работе.

Из ушной вены кролика берут 2 мл крови и помещают в центрифужную пробирку с несколькими кристалликами калия оксалата. Для предотвращения свертывания крови пробирку все время встряхивают, чтобы оксалат калия растворился. Затем в пробирку вносят 2 мл 2%-ного раствора трихлоруксусной кислоты и размешивают стеклянной палочкой. Спустя 5 мин центрифугируют кровь в течение 5 мин при  $2500 \text{ мин}^{-1}$  или фильтруют через маленький фильтр в пробирку или цилиндр на 10 мл.

Ровно 2,5 мл фильтрата (центрифугата) крови выливают в трубку левого колена над краном. Осторожно открывают кран и переводят фильтрат крови полностью под кран, который тотчас закрывают. В этот момент необходимо проследить за тем, чтобы под кран не попал воздух. Если кран был закрыт с запозданием, то из-под него нужно удалить воздух. Для этого в правое колено доливают солевой раствор несколько выше левого крана. Последний открывают и удаляют пузырек воздуха, а кран снова закрывают.

Правый кран поворачивают на соединение с отводной трубкой, через которую спускают солевой раствор из правого колена более чем наполовину. Затем кран переводят на соединение с левым коленом.

В верхнюю трубку левого колена вливают 6—7 мл раствора бромноватистого натрия. Открывают левый кран и 5—6 мл реактива спускают под кран, который быстро закрывают. Немедленно начинается разложение мочевины с выделением газообразного азота, который вытесняет часть солевого раствора из левого колена в правое. Выжидают около 5 мин, пока образование пузырьков не прекратится полностью. Перекрывают правый кран, левую трубку осторожно наклоняют в разные стороны для сбора всех пузырьков газа под левым краном. Постукиванием по стеклу отделяют пузырьки, приставшие к стенкам трубки, и присоединяют их к общему объему газа.

Затем правый кран поворачивают на соединение с левым коленом, а в правую трубку доливают солевой раствор до уровня, одинакового с левой трубкой. После этого измеряют объем газа в миллилитрах. Количество мочевины определяют по таблице 28.

**28. Определение мочевины по Коварскому (1 мл азота соответствует  
1 г мочевины в 1 л)**

Давление, мм рт. ст.	Температура, °C				
	16	18	20	22	24
725	1,90	1,89	1,87	1,85	1,83
730	1,91	1,90	1,88	1,87	1,85
735	1,93	1,91	1,89	1,88	1,86
740	1,94	1,92	1,90	1,89	1,87
745	1,96	1,94	1,92	1,91	1,88
750	1,97	1,95	1,93	1,92	1,90
755	1,98	1,96	1,95	1,93	1,92
760	2,00	1,98	1,96	1,95	1,93
765	2,01	1,99	1,97	1,96	1,94
770	2,02	2,00	1,98	1,97	1,95

Например, в аппарате Коварского выделилось 0,15 мл газа (азота) при температуре 16 °C и барометрическом давлении 760 мм рт. ст. (101,3 кПа). В таблице 28 на пересечении этих строчек находят число 2. Умножая это число на объем азота, получают:  $0,15 \cdot 2 = 0,30$ . Следовательно, в 1 л крови содержится 0,30 г мочевины, или 30 мг% (5 ммоль/л).

Нормальное содержание мочевины в крови кроликов составляет 10—30 мг% (1,67—5 ммоль/л).

*Определение мочевины в суточной моче.* В стаканчик наливают 3—4 мл мочи и точно такой же объем 20%-ного раствора трихлоруксусной кислоты. Жидкости перемешивают и оставляют на 5 мин. После этого их фильтруют через бумажный фильтр. Переносят 1 мл фильтрата в чистую пробирку, в которую добавляют 9 мл дистиллированной воды, и хорошо перемешивают стеклянной палочкой. В моче, разбавленной в 10 раз, определяют содержание мочевины точно так же, как в крови. Одинаково ведут и расчет, а затем количество полученного азота умножают на 10, т. е. на степень разведения мочи.

В норме в моче кроликов содержится около 2 % (0,33 моль/л) мочевины. Например, определение мочевины проводили при температуре 16 °C и барометрическом давлении 760 мм рт. ст. В таблице 28 на пересечении этих строчек находят число 2. Объем газа, выделенного в аппарате Коварского, составил 0,45 мл. Перемножая эти числа ( $0,45 \cdot 2$ ), получают 0,90. Следовательно, в 1 л мочи содержится  $0,90 \cdot 10 = 9$  г мочевины, или 900 мг% (150 ммоль/л), или 0,9 % (0,15 моль/л). Число 10 означает степень разведения мочи.

**Оформление протокола опыта.** Результаты определения химического состава мочи при патологии записывают в таблицу 29.

## 29. Содержание белка, сахара, мочевины в моче животных в норме, при патологии и экспериментальном нефрите

Проба	Характер почечной патологии у животного	Составные части мочи		
		белок, мг%	сахар, %	мочевина, мг%

- 1 Норма
- 2 Экспериментальный нефрит
- 3 Больное животное

Делают выводы о наличии патологических составных частей в моче животных с экспериментальным нефритом и «неизвестной» патологией почек. В заключение определяют характер нарушений функции почек у контрольного животного и объясняют механизм протеинурии, гематурии, глюкозурии.

### ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

1. Какие две группы факторов могут вызвать нарушение выделительной функции почек? 2. Что понимают под экстраренальными причинами нарушения функции почек? 3. Какие поражения почек приводят к нарушению их функции? 4. Как изменяется функция почек при поражении почечных клубочков? 5. К каким расстройствам функции почек приводит поражение почечных канальцев? 6. Какие количественные изменения диуреза развиваются при нарушении общего и органного (почечного) кровообращения? 7. Какие изменения химического состава мочи указывают на патологию почек? 8. Каковы механизмы протеинурии, глюкозурии? 9. В каких случаях в моче могут появиться эритроциты и гемоглобин? 10. Какие структурные элементы почек поражаются при цилиндрении? 11. В чем состоит механизм артериальной гипертензии при поражении почек, в частности при гломерулонефрите?

### ЗАДАЧИ

1. В ветеринарную лечебницу в июле была доставлена корова с признаками гемоглобинурии и высокой (40,6 °C) температурой тела. Животное отказывалось от корма, молочная продуктивность была существенно снижена. Какова возможная причина появления гемоглобина в моче больного животного?

2. Ветеринарный врач приехал по вызову к больному жеребенку. При осмотре он выяснил, что животное периодически ложится и встает, смотрит на живот, часто становится в позу для мочеиспускания, но моча не выделяется. Жеребенок отказывался от воды и корма, потоотделение было обильным, дыхание замедленным, порывистым, пульс малый, слабого наполнения, 23 удара в 1 мин. Какова наиболее вероятная причина задержки выделения мочи у жеребенка? Какие могут быть последствия?

3. В ветеринарную лечебницу доставлена истощенная собака. Из анамнеза установлено, что животное имеет повышенный аппетит, постоянно испытывает жажду, страдает полиурией. При лабораторном анализе крови и мочи обнаружены глюкозурия, гипергликемия. Какое заболевание эндокринной системы сопровождается описанными симптомами? Как объяснить патогенез полиурии?

4. В зверосовхозе резко участились случаи падежа норок от мочекаменной болезни. Какие дефекты в кормлении зверей клеточного содержания могли привести к данной ситуации?

5. У коровы, перенесшей ящур, в моче обнаружены белок и кровь, установлена артериальная гипертензия. На какую форму почечной патологии указывают эти признаки?

6. У барана-производителя обнаружен гидронефроз (водянка почки), развившийся вследствие закупорки правого мочеточника камнем. Каковы причины и патогенез этой болезни?

7. У собаки, поступившей в ветеринарную лечебницу, установлена полиурия. Какие исследования необходимо провести для уточнения этиологии и патогенеза этого явления?

8. В ветеринарную лечебницу поступила корова с отеками век, подгрудка при нормальной температуре тела. Исследование мочи выявило белок и мочевые цилиндры. Для какой почечной патологии характерны эти отеки и на что необходимо исследовать кровь для подтверждения?

9. У коровы, поступившей в ветеринарную лечебницу, обнаружена полиурия. Моча низкой плотности (1,005), со следами белка. Температура тела в пределах нормы, кровяное давление повышено, пульс учащен. Для какой хронической почечной патологии характерны эти признаки и каков патогенез этой болезни?

10. В ветеринарную лечебницу поступила собака (сука) с признаками поллакирии. Мочеиспускание малыми порциями, а иногда отдельными каплями. После мочеиспускания наблюдаются тенезмы (позывы). Состав мочи без особых изменений. На поражение какого отдела мочеполовой системы эти признаки могут указывать и каков патогенез болезни?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Этиология и патогенез мочекаменной болезни у домашних животных.
2. Патогенетические аспекты острого диффузного гломерулонефрита.
3. Функциональная недостаточность почек.

## ЛИТЕРАТУРА

Внутренние болезни сельскохозяйственных животных/Под. ред. В. М. Данилевского. — М.: Агропромиздат, 1991.

Внутренние незаразные болезни крупного рогатого скота/Под ред. профессора П. С. Ионов. — М.: Колос, 1975.

Почки и гомеостаз в норме и при патологии/С. Клар и др. Пер. с англ. — М.: Медицина, 1987.

Руководство по патологической физиологии/Под ред. Н. Н. Сиротинина. — М.: Медицина, 1966, т. 3.

## Тема 19

### ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ

**Цель занятий.** Изучить этиологию и патогенез эндокринных нарушений.

**Задание 1.** В модельных опытах изучить влияние гипо- и гиперфункции некоторых эндокринных желез на жизнедеятельность организма.

**Опыт 1.** Влияние надпочечниковой недостаточности на чувствительность крыс к различной нагрузке.

**Материальное оснащение:** столики для фиксации крыс (2); хирургические наборы (2); большие стеклянные воронки (4); кюветы (4); стеклянные сосуды на 10 л (2); электротермометры (2); секундомеры (2); эфир для наркоза (30 мл); 5%-ный спиртовой раствор йода (10 мл); подопытные животные: крысы (4).

**П о с т а н о в к а о п ы т а .** Берут двух однополых, близких по возрасту белых крыс массой более 200—250 г. За трое суток до занятий у одной из них удаляют оба надпочечника. Операцию адреналэктомии проводят с соблюдением требований асептики. Для наркоза используют эфир, ватку с которым помещают под большую стеклянную воронку, где находится животное. Наркотизированную крысу фиксируют животом вниз на операционном столике. Выстригают, а затем сбривают шерсть по линии позвоночного столба в области последних грудных и поясничных позвонков. Кожу дважды смазывают спиртовым раствором йода, операционное поле ограничивают стерильной тканью. Делают кожный разрез длиной 2 см по среднепозвоночной линии. После этого, отступив примерно 0,5 см от края позвоночника, справа и слева рассекают апоневроз, раздвигают мышцы и тупым путем подходят к почкам. У краниального конца правой и левой почек находят надпочечники. Осторожно отпрепаровывают их, под кровеносные сосуды подводят лигатуры и аккуратно перевязывают, после чего удаляют сначала один, а потом второй надпочечник. Справа и слева на мышцы накладывают швы и непрерывным швом соединяют края кожной раны.

Во время занятий оперированную крысу помещают под стеклянную воронку, а рядом располагают вторую неоперированную, контрольную, крысу. Обращают внимание на поведение животных, подсчитывают число дыхательных движений, электротермометром РТ-01 измеряют ректальную температуру. После этого обеих крыс опускают в стеклянную банку емкостью 10 л, наполненную водой температурой, близкой к температуре тела (33—35 °С). Наблюдают за поведением животных в воде, отмечают продолжительность активного плавания. Затем крыс извлекают из сосуда, вновь подсчитывают число дыхательных движений в 1 мин и измеряют температуру в прямой кишке. Данную процедуру повторяют спустя 5 и 10 мин после прекращения пребывания животных в воде.

**О ф о р м л е н и е п р о т о к о л а о п ы т а .** Кратко записывают порядок проведения адреналэктомии у крыс. Отмечают характер поведения оперированного и контрольного животных в воде, продолжительность активного плавания. Записывают результаты измерения ректальной температуры и частоту дыхания до физической нагрузки и в разные сроки после нее.

**О п ы т 2 .** Влияние гипо- и гиперфункции щитовидной железы на развитие гипоксии.

**Материальное оснащение:** столики для фиксации крыс (2); хирургические наборы (2); аппараты Комовского (2); электрокардиографы (2); секундомеры (2); клетки для крыс (2); тиреоидин (2,5 г); 5%-ный раствор гексенала (1 мл); 5%-ный спиртовой раствор йода (3 мл); подопытные животные: крысы (6).

**П о с т а н о в к а   о п ы т а .** Подбирают трех взрослых белых крыс (самцов), близких по возрасту и массе тела. Одной крысе за пять суток до занятий ежедневно в корм включают тиреоидин из расчета 0,1 г на 100 г массы тела. Второй крысе за трое суток до занятий удаляют щитовидную железу. Делают это следующим образом. Внутривентриально вводят 5%-ный раствор гексенала из расчета 0,2 мл на 100 г массы тела. Наркотизированное животное помещают на операционный столик, к которому его привязывают с помощью наложенных на конечности повязок. В области верхней трети шеи готовят поле операции, которую проводят в условиях асептики. Делают разрез кожи длиной 2,5—3 см по срединной линии. В глубине разреза тупым путем раздвигают мышцы, отодвигают правые и левые подчелюстные слюнные железы и лимфатические узлы, обнажают трахею. Обе щитовидные железы, соединенные в своей верхней части тонким перешейком, лежат на поверхности 4—5-го трахеального кольца справа и слева, начиная от гортани. Дольки темно-красного цвета, плотные. На поверхности каждой из них находятся парашитовидные железы, которые легко отличить по бледному цвету и округлой форме.

Щитовидные железы отпрепаровывают от трахеи и прилежащих мышц. Под кровеносные сосуды (артерии и вены) железы подводят лигатуры и перевязывают, чтобы предупредить кровотечение. После перевязки сосудов сначала удаляют одну долю щитовидной железы, а затем перешеек со второй долей. Вместе с щитовидной удаляют и парашитовидные железы. После этого возвращают мышцы, лимфоузлы и слюнные железы на свои места. На кожу накладывают несколько узловатых швов. Места вколов иглы обрабатывают спиртовым раствором йода.

Третья крыса, интактная, служит контролем. В день занятий эксперимент начинают с измерения температуры в прямой кишке, подсчета дыхательных движений в 1 мин, электрокардиографического обследования, для чего животных помещают в узкие дырчатые плексигласовые клетки со свободным доступом к конечностям.

После определения основных показателей жизнедеятельности крыс их маркируют краской и помещают в стеклянный толстостенный сосуд, откуда насосом Комовского начинают откачивать воздух. По достижении уровня давления, равного 80 кПа (600 мм рт. ст.), на 5 мин откачивание прекращают, затем процедуру повторяют до достижения давления 60 кПа (450 мм рт. ст.) и 40 кПа (300 мм рт. ст.). Во время перерывов наблюдают за состоянием животных. При последовательном снижении атмосферного давления отмечают сроки гибели крыс.

**О ф о р м л е н и е   п р о т о к о л а   о п ы т а .** Кратко описывают подготовку к эксперименту. Фиксируют показатели исходного состояния, вклеивают электрокардиограммы. Отмечают поведение и внешний вид крыс в ходе развития гипобарической ги-

поксии. Записывают время появления одышки, цианоза, скорость и характер двигательных расстройств, время гибели животных. Анализируют роль функционального состояния щитовидной железы в развитии гипоксии.

**Опыт 3.** Роль надпочечных желез в поддержании температурного гомеостаза у кошки.

**Материальное оснащение:** операционные столы для кошек (2); хирургические наборы (2); шприцы на 10 мл с иглами (2); клетки для кошек (4); электротермометры (2); холодильная камера; 30%-ный раствор уретана (40 мл); раствор Рингера для млекопитающих (200 мл); подопытные животные: кошки (4).

**Постановка опыта.** За 2—3 дня до занятий у кошки удаляют оба надпочечника. Животное наркотизируют внутривенной инъекцией 30%-ного раствора уретана из расчета 1 г на 1 кг массы тела. Наркотизированную кошку фиксируют на операционном столе спиной вниз. Выстригают и выбривают шерсть на 3 см вправо и влево от белой линии живота. Поле операции дважды смазывают спиртовым раствором йода, обкладывают стерильными марлевыми салфетками. Делают разрез длиной 5—6 см вниз от мечевидного отростка. Послойно рассекают брюшную стенку. Из брюшной полости выводят петли кишечника, размещая их на салфетках. Отыскивают конец левой почки, краниальнее ее находят надпочечник. Пинцетом вскрывают брюшину, обнажают орган, тупым путем аккуратно отпрепаровывают его из окружающих тканей, захватывают и удерживают изогнутым (зубным) пинцетом. Под сосудистый пучок подводят лигатуру из шелковой нити и перевязывают надпочечник, а затем, отступив, насколько это возможно от лигатуры, отрезают его. Таким же образом удаляют и правую надпочечниковую железу. Кишечник увлажняют раствором Рингера и опускают через разрез в брюшную полость. Операционную рану закрывают двухэтажным швом. У кошек отсутствует добавочная адреналовая ткань вне надпочечника, поэтому последствия адреналэктомии наблюдают уже через несколько часов после операции. Адреналэктомированное животное необходимо сразу же поместить в достаточно теплое помещение.

В день занятий демонстрируют оперированную кошку и вторую, интактную. Адреналэктомированная кошка отличается адинамией, снижением мышечной возбудимости, общим угнетением, пониженной температурой тела. После обследования исходного состояния каждое животное сажают в деревянную решетчатую клетку и помещают в холодную камеру с температурой воздуха 5—8 °С на 60 мин.

Затем животных помещают в исходные условия. Измеряют температуру в прямой кишке обеих кошек. Обнаруживают существенную разницу. Повторно измеряют температуру тела через 10 и 20 мин. Учитывают поведенческие реакции у нормальной и адреналэктомированной кошек.

Оформление протокола опыта. Кратко описывают подготовку к эксперименту. Фиксируют данные обследования подопытной и контрольной кошек до и после охлаждения. Объясняют механизм возникающей гипотермии у адреналэктомизированной кошки. Делают выводы о роли надпочечников в терморегуляции.

#### Опыт 4. Влияние питуитрина на диурез у крыс и мышей.

Материальное оснащение: шприцы на 10 мл с толстыми изогнутыми затупленными иглами (2); шприцы на 1 мл с иглами (2); операционные столики для крыс (2); хирургические наборы (2); тонкие полиэтиленовые трубки (2); ртутные манометры (2); стеклянные колбы на 50 мл (2); стеклянные воронки (8); штативы (8); градуированные пробирки (8); 5%-ный свежеприготовленный раствор гексенала (10 мл); раствор Рингера для теплостойких (150 мл); питуитрин (5 ЕД в 1 мл) (3 ампулы); подопытные животные: белые крысы (2), белые мыши (8).

Постановка опыта. Крысе массой более 200 г через рот задают теплую воду по 5 мл на 100 г массы тела. Для наркоза внутривенно вводят 5%-ный раствор гексенала из расчета 0,2 мл на 100 г массы тела. После наступления наркотического состояния, о чем судят по отсутствию защитных болевых рефлексов, животное фиксируют на операционном столике. В нижней части живота выстригают шерсть и по белой линии делают полойно разрез брюшной стенки на 25—30 мм вверх от лонного сочленения. Отыскивают мочевой пузырь, который расположен сразу за брюшиной, над лонным сращением. В области дна мочевого пузыря делают маленький разрез, в который вводят и фиксируют кистетным швом тонкую (2 мм) длинную (25—30 см) полиэтиленовую трубку, предварительно заполненную раствором Рингера. Для обеспечения свободного вытекания мочи операционный столик устанавливают в наклонном положении. Операционную рану прикрывают марлевой салфеткой, смоченной раствором Рингера. На время опыта животное обогревают грелкой.

Исходные показатели диуреза определяют в течение 5—10 мин по количеству капель мочи, выделенных за 1 мин. После определения исходного фона крысе в заднюю ногу внутримышечно вводят 0,2—0,25 мл (1—1,25 ЕД) питуитрина (гормональный препарат из задней доли гипофиза, обладающий антидиуретическим действием). Продолжают наблюдения. Через несколько минут отмечают снижение уровня диуреза, эффект сохраняется более 0,5 ч.

Четырем белым однополым мышам массой 18—20 г внутривенно вводят по 1,5 мл стерильного раствора Рингера. Двум мышам, кроме того, внутримышечно вводят по 0,2 мл (2 ЕД) питуитрина, двум другим — по 0,2 мл раствора Рингера. Каждую мышь помещают в стеклянную воронку, фиксированную на штативе. Под воронку подставляют градуированную пробирку для сбора мочи. В течение 45 мин наблюдают за диурезом. Сопоставляют



количество мочи, выделившееся у подопытных и контрольных животных.

**Оформление протокола опыта.** Записывают последовательность проведения эксперимента. Фиксируют результаты наблюдений за исходным уровнем диуреза и мочеотделения у крыс после введения им питуитрина. Сравнивают количество мочи, выделенное подопытными и контрольными мышами. Определяют латентный период действия питуитрина. Объясняют механизм антидиуретического действия препарата.

**Опыт 5.** Влияние питуитрина и адреналина на пигментные клетки лягушки.

**Материальное оснащение:** большие стеклянные воронки (6); шприцы на 1 мл с иглами (2); раствор адреналина (1 : 1000) (3 мл); раствор питуитрина (5 ЕД в 1 мл) (2 мл); кюветы (6); подопытные животные: лягушки (6).

**Постановка опыта.** Берут трех одинаковых лягушек, адаптированных к комнатным условиям. Одной из них шприцем в спинной лимфатический мешок вводят 1 мл 0,1%-ного раствора адреналина, другой инъецируют 0,5 мл раствора питуитрина (5 ЕД в 1 мл), третья лягушка остается контрольной. Каждую лягушку помещают на отдельную кювету и накрывают стеклянной воронкой, через которую хорошо видна окраска кожи и обеспечен достаточный доступ воздуха.

Уже через 5—8 мин у лягушки, получившей адреналин, меняется окраска кожи. Кожа постепенно начинает светлеть, так как под влиянием гормона мозгового вещества надпочечников пигментные клетки-меланофоры сжимаются, округляются и втягивают свои отростки.

У лягушки, получившей гормональный препарат задней доли гипофиза — питуитрин, окраска кожного покрова начинает изменяться несколько позже. Более интенсивное по сравнению с контрольным животным темное окрашивание кожи отчетливо проявляется только через 30—40 мин. Реакция потемнения объясняется тем, что под влиянием питуитрина меланофоры расширяются, количество пигмента в них увеличивается.

**Оформление протокола опыта.** Записывают условия выполнения экспериментальной работы. Оценивают влияние гормонов мозгового слоя надпочечников и задней доли гипофиза на пигментацию кожи лягушки, имеющую приспособительное значение.

**Опыт 6.** Влияние кастрации на половые признаки петуха.

**Материальное оснащение:** хирургический набор (1); петли (экраны) (2); 1%-ный йодированный спирт (50 мл); 1%-ный масляный раствор тестостеронпропионата (35 мл); подопытные животные: петухи (4).

**Постановка опыта.** За две-три недели до занятий четырех отобранных петухов в возрасте 1—1,5 мес кастрируют.

Птицу в течение суток выдерживают без корма, воду не ограничивают.

Оперируют без наркоза, так как птицы переносят его плохо. Перед кастрацией петуха кладут на бок, фиксируя руками конечности и крылья. Ноги связывают и оттягивают назад. В последнем межреберном промежутке выщипывают перья. Кожу обрабатывают йодированным спиртом. Делают разрез кожи длиной 4—5 см, начиная от контура длиннейшей мышцы спины вниз по переднему краю последнего ребра, чтобы предупредить повреждение межреберных сосудов по ходу разреза (рис. 45).

Кожу предварительно слегка смещают в сторону, чтобы после операции разрезы кожи и мышц не совпадали. Затем разрезают межреберные мышцы, зондом разрывают тонкую брюшину. С помощью ранорасширителя раздвигают ребра таким образом, чтобы ширина разреза достигала 2 см. Получив доступ в брюшную полость, смещают кишечник вниз. Обнажается семенник, прикрепленный брыжейкой к спинной стенке брюшной полости около средней линии, непосредственно у переднего края почки. Семенник представляет собой удлиненное тело с закругленными концами длиной 1—1,5 см и покрыт тонкой прозрачной пленкой. Рядом проходит крупная подвздошная вена, повреждение стенки которой может привести к смертельному кровотечению. Поэтому семенник отделяют с большой осторожностью и только тупым пу-

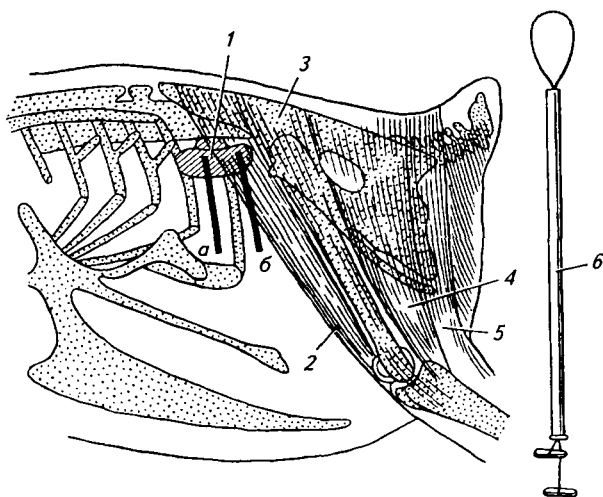


Рис. 45. Способы кастрации петухов:

*a* — разрез в последнем межреберье; *б* — разрез за последним ребром; 1 — семенник; 2 — портняжная мышца; 3 — напрягатель широкой фасции бедра; 4 — двуглавая мышца бедра; 5 — полусухожильная мышца; 6 — петля (экразер)

тем. Для удаления семенника пользуются тонкой проволоочной петлей — экразером. Ее подводят под один конец семенника, далее под другой и, постепенно сжимая петлю, отсекают семенник от брыжейки. Сначала удаляют один семенник, потом пытаются удалить и второй. Операционную рану закрывают двухэтажным швом. Вначале шелковыми нитками стягивают ребра, затем на кожу накладывают непрерывный шов, который смазывают спиртовым раствором йода. Если удален только один семенник, приступают к удалению другого на противоположной стороне. Швы с кожи снимают через 7 дней.

После операции двум из четырех кастрированных петухов ежедневно в течение двух недель подкожно вводят 1%-ный масляный раствор тестостеронпропионата по 1 мл на 1 кг массы тела.

Спустя 2—3 нед после операции контрольных и подопытных птиц демонстрируют на занятиях. Обращают внимание на вторичные половые признаки, в частности величину гребня, бородачки, сеरेжек (рис. 46).

**Оформление протокола опыта.** Зарисовывают схему оперативного доступа к семенникам петуха, кратко описывают технику операции со слов преподавателя. Объясняют изменения в организме птицы, возникшие после кастрации. Делают выводы о влиянии тестостерона на зависимые вторичные половые признаки.

**Опыт 7.** Влияние избыточных количеств гонадотропных гормонов на половое созревание.

**Материальное оснащение:** шприцы на 1 мл с иглой (2); торсионные весы (2); 70%-ный раствор этилового спирта (10 мл); хорионический гонадотропин в ампулах по 500 ЕД (20 ампул); подопытные животные: цыплята (петушки) 2-дневного возраста (20).

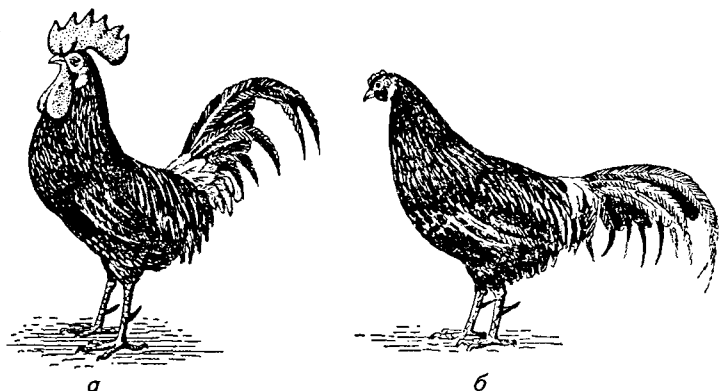


Рис. 46. Влияние кастрации на половые признаки у петуха:

а — нормальный петух; б — кастрированный петух

**П о с т а н о в к а о п ы т а.** Эксперимент проводят на 20 цыплятах (петушках). Десяти из них дважды в возрасте 3 и 10 дней подкожно вводят хорионический гонадотропин по 500 ЕД на одну инъекцию. Через 2—3 нед контрольных и подопытных цыплят демонстрируют студентам. Животных обеих групп взвешивают, сравнивают внешний вид головного убора (гребень, сережки, бородки), другие вторичные половые признаки. Из каждой группы забивают по одному цыпленку, извлекают семенники и взвешивают их на торсионных весах.

**О ф о р м л е н и е п р о т о к о л а о п ы т а.** Записывают условия опыта и данные о состоянии вторичных половых признаков у петушков обеих групп и массе семенников. Объясняют влияние хорионического гонадотропина, близкого по биологическому действию к лютеинизирующему гормону передней доли гипофиза, на скорость полового созревания петушков.

**О п ы т 8.** Влияние сыворотки жеребых кобыл на половую сферу самок.

**М а т е р и а л ь н о е о с н а щ е н и е:** шприцы на 2 мл с иглой (2); глазные ножницы (2); весы (2); лупы (2); сыворотка жеребых кобыл (120 МЕ/мл) (3 мл); эфир для наркоза (30 мл); подопытные животные: белые крысы (4).

**П о с т а н о в к а о п ы т а.** Неполовозрелым белым крысам (самкам) близкого возраста массой 45—50 г за 10 дней до занятий подкожно вводят по 1 мл сыворотки жеребых кобыл (СЖК). В день занятий берут одну крысу, которой ввели СЖК, и одну интактную (контрольную). Животных маркируют краской, помещают под стеклянный колпак и усыпляют эфиром. У обеих крыс вскрывают брюшную полость, обнажают яичники, рога и тело матки. Визуально определяют состояние полового аппарата у неполовозрелой интактной крысы и у крысы, стимулированной СЖК. Обращают внимание на то, что у контрольной самки матка мала по размерам, бледна, яичники едва различимы. У подопытной самки рога и тело матки утолщены, набухшие, ярко окрашены, яичники четко выражены (рис. 47). Под лупой в яичниках видны созревающие фолликулы, чего не обнаруживают у контрольной крысы.

Для объективной оценки функционального состояния полового аппарата у двух животных аккуратно отпрепаровывают от подлежащих тканей яичник, рога и тело матки, иссекают их и взвешивают на электронных весах.

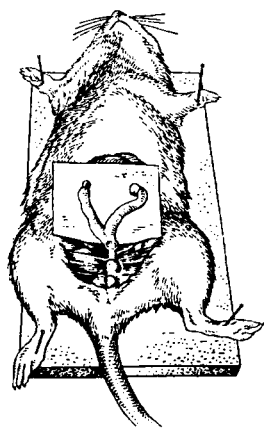


Рис. 47. Матка и яичники неполовозрелой крысы после введения СЖК

**Оформление протокола опыта.** Записывают порядок подготовки к эксперименту. Отмечают результаты визуального осмотра полового аппарата контрольной и подопытной самок, результаты взвешивания их половых органов. Объясняют механизм действия СЖК. Делают выводы.

**Опыт 9.** Влияние сыворотки жеребых кобыл на половую функцию лягушек (самцов).

**Материальное оснащение:** микроскопы (15); предметные стекла (15); глазные пипетки (15); сыворотка жеребых кобыл (120 МЕ/мл) (60 мл); подопытные животные: лягушки (самцы) (15).

**Постановка опыта.** Берут двух взрослых лягушек (самцов). Из клоаки пипеткой набирают каплю содержимого и наносят на предметное стекло. Рассматривают под средним увеличением микроскопа с целью обнаружения сперматозоидов. В том случае, если их не находят, в спинной лимфатический мешок вводят 3—4 мл СЖК. Повторное исследование проводят через час после инъекции гормонального препарата. Второго самца оставляют для контроля.

**Оформление протокола опыта.** Записывают последовательность проведения эксперимента. Фиксируют результаты исследования содержимого клоаки лягушки (самца) до и после гормонального воздействия, а также у контрольного животного. Объясняют влияние гонадотропных гормонов на функцию мужских половых желез.

**Задание 2.** Изучить некоторые механизмы стресс-реакции.

**Опыт 1.** Иммобилизационный стресс у крыс.

**Материальное оснащение:** столики для фиксации крыс (2); большие стеклянные воронки (2); кюветы (2); электронные весы (2); булавки (24); глазные ножницы (2); лупы (2); анатомические пинцеты (2); препаровальная досочка (4); эфир для наркоза (30 мл); подопытные животные: белые крысы (4).

**Постановка опыта.** За 24 ч до занятия взрослую крысу фиксируют на операционном столике брюшком вверх. Во время занятия крысу усыпляют эфиром и проводят патологоанатомическое обследование. Для контроля с помощью эфирного наркоза усыпляют и вторую, здоровую (интактную), крысу. У обоих животных вскрывают брюшную полость, отпрепаровывают и иссекают надпочечники, извлекают желудки с начальной частью двенадцатиперстной кишки. Стенку желудка разрезают по большой кривизне, обнажают и слизистую оболочку кишки. С помощью лупы тщательно осматривают слизистые оболочки исследуемых объектов. Сравнивают состояние их у подопытной крысы, подвергнутой стрессу (опыт Г. Селье), и интактной крысы. После детального внешнего осмотра надпочечники того и другого животных взвешивают на электронных весах. Стрессором в данном эксперименте служит фиксированное положение животного при полном голодании.

Оформление протокола опыта. Записывают условия моделирования стресса. Дают морфологическую характеристику состояния слизистой оболочки желудка у подопытного и контрольного животных. Объясняют механизм стрессового воздействия иммобилизации.

## Опыт 2. Роль аденогипофиза в стресс-реакции.

**Материальное оснащение:** столики для фиксации мелких животных (4); большие стеклянные воронки (4); шприцы на 1 мл с иглами (2); ножницы (2); камеры Горяева (6); смесители для белой крови (6); микроскопы (6); электрические вилки с проводами, выключателями и игольчатыми электродами (2); секундомеры (2); эфир для наркоза (50 мл); адренокортикотропный гормон, растворенный в изотоническом растворе натрия хлорида (1 ЕД в 1 мл) (2 мл); раствор Дункера (для его изготовления берут 2%-ный водный раствор эозина и ацетон; для приготовления раствора эозина краску нужно высыпать в воду, нагреть до кипения, профильтровать через бумажный фильтр и охладить; непосредственно перед занятием готовят рабочий раствор Дункера, состоящий из 5 мл 2%-ного раствора эозина, 5 мл ацетона и 100 мл дистиллированной воды); подопытные животные: белые крысы (4).

**Постановка опыта.** Берут двух белых крыс массой 150—200 г, каждую помещают под воронку, где находится ватка с эфиром. Обоих животных под легким наркозом фиксируют на столиках брюшком вверх. У крыс из хвоста берут кровь для определения количества эозинофилов. С этой целью отрезают кончик хвоста и собирают кровь в лейкоцитарные меланжеры до меток I и II, разводят раствором Дункера. Меланжер осторожно качают в течение нескольких минут для смешивания крови. Подсчет клеток проводят в камере Горяева обычным методом, но не позднее чем через 30 мин после взятия крови. Метод Дункера основан на сохранении эозинофилов в растворе ацетона, в то время как все остальные элементы крови разрушаются. Количество эозинофилов

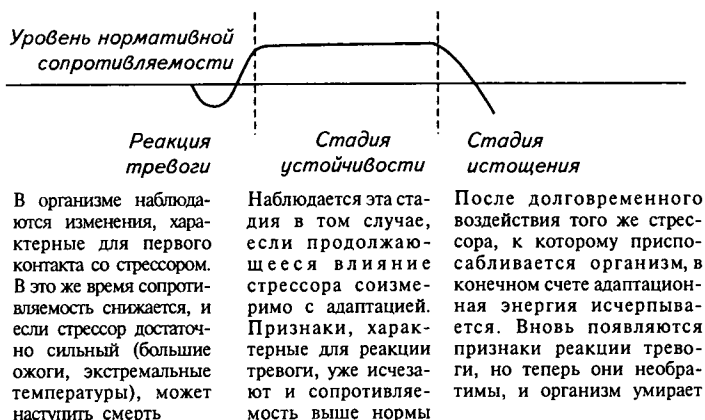


Рис. 48. Три стадии адаптационного синдрома (Г. Селье, 1977)

подсчитывают в 100 больших квадратах сетки Горяева и умножают на 50. Получают число эозинофилов в 1 мкл.

После подсчета эозинофилов одну из крыс подвергают стрессовому воздействию. Через игольчатые электроды, введенные под кожу обеих задних лапок, пропускают сетевой электрический ток напряжением 127 В в течение 5 с трижды через 1 мин. Через 1 ч после воздействия вновь определяют число эозинофилов в 1 мкл. Второй крысе в хвостовую вену вводят раствор адренокортикотропного гормона по 1 ЕД на 1 кг массы тела. Через 1 ч после инъекции гормона повторно определяют количество эозинофилов.

**Оформление протокола опыта.** Записывают ход опыта. Фиксируют результаты подсчета эозинофилов до и после воздействия на организм электротока и АКТГ. Делают выводы о роли гипофиза в реакции на электротравму, исходя из представлений о стрессе (рис. 48).

### **ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ**

1. Этиология и общий патогенез эндокринопатий. 2. Понятие о гиперфункции, гипофункции и дисфункции эндокринных желез. 3. Механизм нарушений взаимодействия между нервной и эндокринной системами. 4. Гипофункция передней доли гипофиза. 5. Расстройства роста гипофизарного происхождения. 6. Причины и последствия недостаточности образования гонадотропных гормонов гипофиза. 7. Причины и последствия недостаточного выделения задней долей гипофиза антидиуретического гормона. 8. Недостаточность функции коркового вещества надпочечниковых желез. 9. Гиперфункция щитовидной железы. 10. Эндемический зоб. 11. Гипопаратиреоз. 12. Расстройства гормональной функции поджелудочной железы. 13. Нарушение гормональной функции мужских половых желез. 14. Расстройство гормональной функции женских половых желез у сельскохозяйственных животных. 15. Влияние кастрации сельскохозяйственных животных на их продуктивность. 16. Нарушение функции тимуса (вилочковой железы) вследствие аплазии. 17. Общий адаптационный синдром. Учение Г. Селье о стрессе.

### **ЗАДАЧИ**

1. Нетель двух лет имеет хорошую упитанность, постоянно находится в состоянии половой охоты, но не оплодотворяется. Какую патологию эндокринной системы можно подозревать у животного?

2. У новорожденных цыплят удалена вилочковая железа. Каковы последствия такой операции? Как их можно корректировать?

3. При действии любого стресса на организм возникает характерная для адаптационного синдрома триада: инволюция тимико-лимфатической системы, гипертрофия коркового вещества надпочечников, язвенные поражения слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки. Как объяснить механизм появления эрозий слизистой оболочки желудка и кишечника при действии стресс-факторов? Может ли быть использована теория Г. Селье для объяснения этиологии и патогенеза язвенной болезни у свиней, пушных зверей клеточного содержания?

4. Стресс проявляется общим адаптационным синдромом, состоящим из трех сменяющих друг друга стадий: реакции тревоги, резистентности, истощения. Для какой из этих стадий характерны гипертрофия коркового вещества надпочечных желез, гиперсекреция гормонов надпочечников, активация анаболических процессов, усиление гликонеогенеза? В чем биологическое значение адаптационного синдрома?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Общий адаптационный синдром. Учение Г. Селье о стрессе.
2. Функциональная недостаточность щитовидной железы у коров.
3. Влияние стресса на продуктивность сельскохозяйственных животных.

## ЛИТЕРАТУРА

- Кондрахин И. П. Алиментарные и эндокринные болезни животных. — М.: Агропромиздат, 1989.
- Павлов А. Д. Патифизиология эндокринной системы. — Рязань, 1983.
- Плященко С. И., Сидоров В. Т. Стрессы у сельскохозяйственных животных. — М.: Агропромиздат, 1987.
- Селье Ганс. Стресс без дистресса: Пер. с англ./Под общ. ред. Е. М. Крепса. — М.: Прогресс, 1982.
- Филаретов А. А. Принципы и механизмы регуляции гипоталамо-адреналокортикальной системы. — Л.: Наука, 1987.
- Целищев Л. И. Практическая ветеринарная андрология. — М.: Колос, 1982.
- Шрейбер В. Патифизиология желез внутренней секреции. — Прага, 1987.

## Т е м а 20

### ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

**Цель занятий.** Изучить этиологию, патогенез и последствия функциональных расстройств нервной системы.

**Задание.** Моделирование и изучение расстройств нервной регуляции.

**Опыт 1.** Моделирование эпилепсии у мышей инъекцией камфоры.

**Материальное оснащение:** кюветы (6); большие стеклянные воронки (6); шприцы на 1 мл с иглами (4); секундомеры (2); 20%-ный масляный раствор камфоры (2 мл); 2%-ный раствор барбитала (0,5 мл); эфир для наркоза (16 мл); подопытные животные: белые мыши (6).

**Постановка опыта.** Берут трех взрослых, близких по массе белых мышей. Первую мышь помещают под стеклянную воронку, куда кладут вату, смоченную эфиром. После наступления наркоза ей в брюшную полость вводят 0,5 мл 20%-ного раствора камфоры, подогретого до температуры тела. Второй и третьей мышам также внутрибрюшинно вводят то же количество камфоры. Мышей сажают под отдельные стеклянные воронки и наблюдают за их поведенческими реакциями. Очень скоро у второй и третьей мышей появляются непроизвольные сокращения мышц туловища и конечностей. Отмечают время наступления судорог с момента инъекции раздражителя, их характер, продолжительность, периодичность, поведение животных между приступами. У первой мыши состояние наркотического сна не меняется.



После полного развития клинической картины экспериментальной эпилепсии второй мыши внутрибрюшинно вводят 0,1—0,15 мл 2%-ного раствора барбамилла. После инъекции препарата произвольные судорожные сокращения мышц прекращаются.

**Оформление протокола опыта.** Записывают условия экспериментального моделирования эпилепсии у мышей и ее клиническую картину. Объясняют механизм развития эпилептических приступов с учетом их отсутствия у наркотизированного животного и прекращения их у второй мыши после инъекции барбамилла. Делают выводы.

**Опыт 2.** Моделирование гиперкинеза у лягушек введением стрихнина.

**Материальное оснащение:** большие стеклянные воронки (6); шприцы на 1 мл с иглой (2); глазные ножницы (2); хирургические пинцеты (2); хирургические иглы с нитью (2); пинцеты (2); кюветы (6); 1%-ный раствор нитрата стрихнина (6 мл); хлороформ для наркоза (20 мл); подопытные животные: лягушки (6).

**Постановка опыта.** Одной из трех лягушек перерезают спинной мозг на уровне первого-второго позвонка, другой лягушке рассекают спинной мозг в области поясницы на уровне пятого-шестого позвонка. На кожные раны накладывают швы. Общим оперированным лягушкам и одной интактной подкожно, в брюшной лимфатический мешок, вводят по 1 мл 0,1%-ного раствора нитрата стрихнина. Лягушек помещают в кюветы и накрывают стеклянными воронками. Наблюдают за общим состоянием и поведением каждой из них. Приподнимая воронку, периодически пощипывают кожу пинцетом, определяя реакцию на раздражение. Обращают внимание на повышение рефлекторной возбудимости, появление клонических, тонических и клонико-тонических судорог. Отмечают разницу в проявлении произвольных сокращений конечностей у всех трех лягушек, специфику положения передних и задних ног у подопытных животных. На фоне полного проявления классических судорог у неоперированной лягушки под воронку, где она находится, помещают вату, пропитанную хлороформом. Через несколько минут судороги исчезают. Воронку с ватой убирают и вновь наблюдают появление клонико-тонических сокращений скелетных мышц.

**Оформление протокола опыта.** Записывают ход эксперимента. Дают характеристику тоническим, клоническим и клонико-тоническим судорогам. Объясняют, почему отсутствуют произвольные сокращения мышц ниже места перерезки спинного мозга. Устанавливают причину прекращения судорог при вдыхании хлороформа. Делают выводы о влиянии стрихнина на различные отделы нервной системы.

**Опыт 3.** Аудигенный невроз у крыс.

**Материальное оснащение:** металлические клетки для крыс (2); электрические звонки (2); корнцанги (2); 1%-ный раствор кофеин-натрия бензоата (5 мл); 70%-ный этиловый спирт (10 мл); подопытные животные: крысы (16).

**Постановка опыта.** В металлическую клетку со смонтированным на одной из стенок сильным электрическим звонком помещают восемь взрослых белых крыс (самцов), сопоставимых по возрасту и массе. Половину животных отбирают заранее по признаку высокой чувствительности к звуковому раздражителю, так как у белых крыс аудигенную эпилепсию наблюдают лишь в 10—15 % случаев.

Посадив животных в клетку, отмечают их исходное состояние и поведенческие реакции. Затем включают звонок на 8—10 мин. Во время действия звукового раздражителя (110—120 дБ) наблюдают за поведением животных. Отмечают индивидуальные особенности восприятия экстремального воздействия. Регистрируют первичную реакцию у отдельных животных: у одних поведение не изменяется, другие бегают, прыгают, мечутся по клетке, становятся на задние лапы, опрокидываются на спину, принимают боковое положение, появляются некоординированные движения и судороги. Следят за последовательностью развития судорожных сокращений отдельных групп мышц, возникновением эпилептических приступов. После отключения звонка обращают внимание на скорость и последовательность восстановления локомоторной функции.

Для выявления роли центральной нервной системы в реакции крыс на звуковой раздражитель изменяют ее функциональное состояние. Животным, не чувствительным к аудигенному раздражению, для стимуляции рефлекторной возбудимости в брюшную полость вводят 0,4—0,5 мл 1%-ного раствора кофеин-натрия бензоата (20 мл на 1 кг массы тела). Спустя 20 мин вновь включают звонок на 8—10 мин с той же силой звучания. Наблюдают за поведением подопытной группы животных и отдельных особей. Отмечают, что крысы, ранее реагировавшие на звуковое воздействие, после введения кофеина стали к нему более чувствительны.

**Оформление протокола опыта.** Схематически записывают условия проведения эксперимента. Отмечают внешнее проявление реакции на звуковое воздействие у особо чувствительных крыс. Анализируют причину повышения чувствительности животных к аудигенному раздражению после введения кофеин-натрия бензоата. Делают выводы о возможности влияния звукового раздражителя на животный организм.

**Опыт 4.** Вестибулярная атаксия.

**Материальное оснащение:** террариумы (2); глазные пипетки (2); хлороформ для наркоза (4 мл); подопытные животные: морские свинки или белые крысы (6).

**Постановка опыта.** Берут трех взрослых морских свинок или белых крыс. Одной из них в наружный слуховой проход

левого уха пипеткой вводят две капли хлороформа, второму животному закапывают то же количество хлороформа в слуховой проток правого уха, третьей свинке вводят по две капли хлороформа в оба слуховых прохода. Наблюдают за поведением животных. Отмечают, что уже через несколько минут две первые морские свинки начинают совершать круговые движения в ту сторону, где блокированы рецепторы вестибулярного аппарата. Третья свинка по кругу не бежит, но передвигается некоординированно.

**Оформление протокола опыта.** Отмечают характер локомоторных расстройств при блокировании рецепторов лабиринтного аппарата. Анализируют механизм нарушений двигательной функции подопытных животных. Делают выводы о расстройствах координации движений при разрушении и раздражении рецепторов.

## ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ И КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

1. Общая этиология расстройств нервной деятельности животных. 2. Расстройство двигательной функции нервной системы. 3. Атаксия, астения, астазия. 4. Виды и причины нарушений чувствительности. 5. Патологические боли. 6. Висцеро-висцеральные патологические рефлексы. 7. Вегетативные неврозы. 8. Последствия повреждений гипоталамуса. 9. Патологическая доминанта и парабноз. 10. Влияние денервации органов и тканей на их функцию. 11. Изменения трофической функции нервной системы. Нейродистрофии. 12. Невротическое состояние. 13. Типы высшей нервной деятельности, их значение в патологии. 14. Следовые реакции, остающиеся в нервной системе после действия вредоносного фактора. 15. Необходимость удовлетворения враждебных рефлексов как основа профилактики болезней domesticированных животных.

## ЗАДАЧИ

1. Лошадь отдыхала, лежа под конювязью. Резкий сильный звук испугал ее. Вскочив, животное уперлось спиной в металлическую перекладину и мгновенно упало. В последующем лошадь не могла опираться на задние конечности, тем не менее пыталась встать, передвигая передние ноги. Как назвать патологию, возникшую у лошади? Каков ее механизм?

2. Спустя 2—6 дней после перерезки тройничного нерва у кролика на соответствующей стороне появился ряд изменений со стороны слизистой оболочки носа, рта и особенно глаза. Роговица помутнела, а в последующем возникли ее изъязвление, прободение и в конечном итоге разрушение глаза. Как объяснить эти последствия денервации?

3. В результате переболевания нервной формой чумы у собаки начались ритмические произвольные сокращения определенных групп мышц — жевательных и ушных. Какое название носит такая патология, каков ее механизм?

4. В мозговой ткани коры больших полушарий овцы развилась личинка паразита *Scoenopus cerebralis*. Животное часто совершает круговые, маневренные движения или бесцельно бежит, натываясь на препятствия. Как называют такую форму расстройств двигательной функции нервной системы? Как объяснить механизм этой патологии нервной системы?

5. И. П. Павлов выделил четыре типа нервной деятельности: сильный, уравновешенный, живой; сильный, уравновешенный, спокойный; сильный, неуравновешенный, безудержный; слабый. Как соотносить эти типы с классификацией темперамента, предложенной Гиппократом?

## ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

1. Боль, ее влияние на животный организм.
2. Учение о нервной трофике и ее нарушениях.
3. Этологические принципы профилактики болезней сельскохозяйственных животных.

## ЛИТЕРАТУРА

- Ажипа Я. И.** Трофическая функция нервной системы. — М.: Наука, 1990.
- Голиков А. Н.** Нервные болезни животных. — М.: Колос, 1972.
- Ипполитова Т. В.** Типы высшей нервной деятельности, их связь с реактивностью и продуктивностью сельскохозяйственных животных. — М.: МГАВМиБ, 1999.
- Кассиль Г. Н.** Наука о боли. — М.: Наука, 1975.
- Кокорина Э. П.** Условные рефлексы и продуктивность животных. — М.: Агропромиздат, 1986.
- Крыжановский Г. Н.** Общая патофизиология нервной системы. — М.: Медицина, 1997.
- Лютинский С. И.** Этологические принципы профилактики болезней животных. — Л.: ЛВИ, 1988.
- Плахотин М. В.** Иглотерапия в ветеринарии. — М.: Колос, 1966.

---

# ОГЛАВЛЕНИЕ

●

<i>Предисловие</i> .....	3
<i>Введение</i> .....	5
<b>Раздел I. ОБЩЕЕ УЧЕНИЕ О БОЛЕЗНИ</b> .....	7
<b>Тема 1. Предмет и задачи патологической физиологии. С. И. Лютинский</b> .....	7
Темы рефератов .....	22
Литература .....	23
<b>Тема 2. Общая нозология. С. И. Лютинский</b> .....	23
Задания для самоподготовки и контроля знаний .....	31
Задачи .....	31
Темы рефератов .....	31
Литература .....	31
<b>Тема 3. Общая этиология. С. И. Лютинский</b> .....	32
Задания для самоподготовки и контроля знаний .....	35
Задачи .....	35
Темы рефератов .....	35
Литература .....	35
<b>Тема 4. Общий патогенез. С. И. Лютинский</b> .....	36
Задания для самоподготовки и контроля знаний .....	38
Задачи .....	39
Темы рефератов .....	39
Литература .....	39
<b>Тема 5. Действие болезнетворных факторов на живой организм. С. И. Лютинский</b> .....	39
Задания для самоподготовки и контроля знаний .....	52
Задачи .....	52
Темы рефератов .....	53
Литература .....	53
<b>Тема 6. Патологическая физиология клетки. В. С. Степин</b> .....	53
Задания для самоподготовки и контроля знаний .....	56
Задачи .....	56
Темы рефератов .....	57
Литература .....	57
<b>Тема 7. Реактивность организма, ее роль в патологии. В. С. Степин</b> .....	57
Задания для самоподготовки и контроля знаний .....	70
Задачи .....	70
Темы рефератов .....	71
Литература .....	71
<b>Раздел II. ТИПОВЫЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ</b> .....	72

<b>Тема 8. Патологическая физиология периферического кровообращения и микроциркуляции. С. И. Лютинский</b>	72
Задания для самоподготовки и контроля знаний	88
Задачи	89
Темы рефератов	89
Литература	89
<b>Тема 9. Воспаление. С. И. Лютинский</b>	89
Задания для самоподготовки и контроля знаний	98
Задачи	99
Темы рефератов	99
Литература	99
<b>Тема 10. Лихорадка. С. И. Лютинский</b>	100
Задания для самоподготовки и контроля знаний	106
Задачи	107
Темы рефератов	107
Литература	107
<b>Тема 11. Патологическая физиология типовых нарушений обмена веществ. В. С. Степин</b>	108
Задания для самоподготовки и контроля знаний	126
Задачи	126
Темы рефератов	127
Литература	127
<b>Раздел III. ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ОРГАНОВ И СИСТЕМ ЖИВОТНОГО ОРГАНИЗМА</b>	128
<b>Тема 12. Патологическая физиология системы крови. С. И. Лютинский</b>	128
Задания для самоподготовки и контроля знаний	146
Задачи	146
Темы рефератов	147
Литература	147
<b>Тема 13. Патологическая физиология системы кровообращения. С. И. Лютинский</b>	148
Задания для самоподготовки и контроля знаний	158
Задачи	158
Темы рефератов	159
Литература	159
<b>Тема 14. Патологическая физиология иммунной системы. С. И. Лютинский</b>	159
Задания для самоподготовки и контроля знаний	170
Задачи	170
Темы рефератов	171
Литература	171
<b>Тема 15. Патологическая физиология внешнего дыхания. Гипоксия. В. С. Степин</b>	171
Задания для самоподготовки и контроля знаний	177
Задачи	177
Темы рефератов	178
Литература	178
<b>Тема 16. Патологическая физиология пищеварения. В. С. Степин</b>	178
Задания для самоподготовки и контроля знаний	185
Задачи	185
Темы рефератов	186
Литература	186

<b>Тема 17. Патологическая физиология печени. С. И. Лютинский</b> .....	186
Задания для самоподготовки и контроля знаний .....	191
Задачи .....	192
Темы рефератов .....	192
Литература .....	192
<b>Тема 18. Патологическая физиология почек. В. С. Степин</b> .....	192
Задания для самоподготовки и контроля знаний .....	202
Задачи .....	202
Темы рефератов .....	203
Литература .....	203
<b>Тема 19. Патологическая физиология эндокринной системы. С. И. Лютинский</b> .....	203
Задания для самоподготовки и контроля знаний .....	214
Задачи .....	214
Темы рефератов .....	215
Литература .....	215
<b>Тема 20. Патологическая физиология нервной системы. С. И. Лютинский</b> ....	215
Задания для самоподготовки и контроля знаний .....	218
Задачи .....	218
Темы рефератов .....	219
Литература .....	219

Учебное издание

**Лютинский Станислав Иванович,  
Степин Виктор Семенович**

**ПРАКТИКУМ ПО ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИОЛОГИИ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ**

Учебное пособие для вузов

Художественный редактор *В. А. Чуракова*  
Технические редакторы *Л. М. Беляева, Н. Н. Зиновьева*  
Корректор *М. Ф. Казакова*

Лицензия № 010159 от 06. 03. 97 г.

Сдано в набор 07.02.2001. Подписано в печать 28.05.2001.

Формат 60 × 88<sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумага офсетная № 1. Гарнитура

Ньютон. Печать офсетная. Усл. печ. л. 13,72.

Уч.-изд. л. 15,72. Изд. № 088. Тираж 3000 экз.

Заказ № 2809 «С» № 031.

Федеральное государственное ордена  
Трудового Красного Знамени унитарное предприятие  
«Издательство «Колос», 107996, ГСП-6, Москва, Б-78,  
ул. Садовая-Спасская, 18.

Типография ОАО «Внешторгиздат»,  
127576, Москва, Илимская, 7.

ISBN 5-10-003509-9



9 785100 035091